
**Untersuchungen zur diagnostischen Aussage
verschiedener serologischer Verfahren bei Amöbiasis**

Michael v. Zielonka

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554009_0074

Aus dem Institut für Infektions- und Tropenmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität München
Vorstand Prof. Dr. W. Lang

Untersuchungen zur diagnostischen Aussage
verschiedener serologischer Verfahren bei Amöbiasis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Michael v. Zielonka

aus

München

1981



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof.Dr. W.Lang

Prof.Dr. E.Buchborn

Dekan:

Prof.Dr. W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Januar 1982

Inhaltsverzeichnis

1. Allgemeines zum Buch

1.1. Einleitung

1.1.1. Zielsetzung

1.1.2. Aufbau des Buchs

1.1.3. Zielsetzung

1.1.3.1. Zielsetzung

1.1.3.2. Zielsetzung

1.1.3.3. Zielsetzung

1.1.3.4. Zielsetzung

1.1.3.5. Zielsetzung

1.1.3.6. Zielsetzung

1.1.4. Zielsetzung

1.1.4.1. Zielsetzung

1.1.4.2. Zielsetzung

1.1.4.3. Zielsetzung

1.1.4.4. Zielsetzung

1.1.4.5. Zielsetzung

1.1.4.6. Zielsetzung

1.1.5. Zielsetzung

1.1.5.1. Zielsetzung

1.1.5.2. Zielsetzung

1.1.6. Zielsetzung

1.1.7. Zielsetzung

1.2. Zusammenfassung

1.3. Zusammenfassung

1.4. Zusammenfassung

1.5. Zusammenfassung

1.6. Zusammenfassung

1.7. Zusammenfassung

1.8. Zusammenfassung

1.9. Zusammenfassung

1.10. Zusammenfassung

1.11. Zusammenfassung

1.12. Zusammenfassung

1.13. Zusammenfassung

1.14. Zusammenfassung

1.15. Zusammenfassung

1.16. Zusammenfassung

1.17. Zusammenfassung

1.18. Zusammenfassung

1.19. Zusammenfassung

1.20. Zusammenfassung

1.21. Zusammenfassung

1.22. Zusammenfassung

1.23. Zusammenfassung

1.24. Zusammenfassung

1.25. Zusammenfassung

1.26. Zusammenfassung

1.27. Zusammenfassung

1.28. Zusammenfassung

1.29. Zusammenfassung

1.30. Zusammenfassung

Frau Dr. Barbara Koch - Whitmarsh
(Zickendraht - Wendelstadt)
mit herzlichem Dank

<u>Inhaltsangabe</u>		Seite
1	<u>Einleitung und Problemstellung</u>	1
1.1	Übersicht zur Amöbiasis	2
1.1.1	Definition	2
1.1.2	Verbreitung	2
1.1.3	Pathogenese	3
1.1.3.1	Excystation	3
1.1.3.2	Minutaform	4
1.1.3.3	Encystation	4
1.1.3.4	Magnaform	4
1.1.3.5	primäre Abszeßbildung	4
1.1.3.6	sekundäre Abszeßbildung	5
1.1.4	klinisches Bild	5
1.1.4.1	intestinale Amöbiasis	5
1.1.4.1.1	akute Amöbenruhr	6
1.1.4.1.2	chronische Amöbenruhr	6
1.1.4.1.3	Amöbom	7
1.1.4.2	extraintestinale Amöbiasis	7
1.1.4.2.1	Amöbenleberabszeß	7
1.1.4.2.2	andere Amöbenabzesse	8
1.1.5	Diagnose	9
1.1.5.1	intestinale Amöbiasis	9
1.1.5.2	extraintestinale Amöbiasis	9
1.1.6	apathogene Amöben	10
1.2	Übersicht zur Immundiagnostik	11
1.2.1	serologische Methoden	12
1.2.2	Problematisierung der serologischen Verfahren	14
2	<u>Eigene Untersuchungen</u>	15
2.1	Material und Methoden	15
2.1.1	Latexagglutinationstest	15
2.1.1.1	Reagenzien	15
2.1.1.2	Technik	15
2.1.1.3	Auswertung	16
2.1.2	IHAT	16
2.1.2.1	Reagenzien	16
2.1.2.2	Technik	17
2.1.2.3	Auswertung	17
2.1.3	IFAT (polyvalente Antikörperbestimmung)	18
2.1.3.1	Reagenzien	18
2.1.3.2	Technik	18
2.1.3.3	Auswertung	19
2.1.4	IFAT (monospezifische Antikörperbestimmung)	20
2.1.4.1	Reagenzien	20
2.1.4.2	Technik	20
2.1.4.3	Auswertung	20

2.1.5	Stuhlundersuchungen	21
-------	---------------------	----

2.3	Patientenauswahl	21
-----	------------------	----

2.3.1	Kriterien zur Befunderhebung	22
-------	------------------------------	----

2.3.1.1	Anamnestische Angaben	22
---------	-----------------------	----

2.3.1.2	akute Beschwerden	23
---------	-------------------	----

2.3.1.3	Laborbefunde	23
---------	--------------	----

2.3.1.4	technische Untersuchungen	23
---------	---------------------------	----

2.3.2	Einteilung der Personen-/Patientengruppen	23
-------	---	----

2.3.2.1	Rückkehrer insgesamt	23
---------	----------------------	----

2.3.2.2	Kontrollgruppe	24
---------	----------------	----

2.3.2.3	Endemiegruppe	24
---------	---------------	----

2.3.2.4	apathogene Amöbenausscheider	24
---------	------------------------------	----

2.3.2.5	Cysten/Minuta-Ausscheider ohne Beschwerden	24
---------	--	----

2.3.2.6	Cysten/Minuta-Ausscheider mit Beschwerden	24
---------	---	----

2.3.2.7	Amöbenruhrgruppe	25
---------	------------------	----

2.3.2.8	Leberabszeßgruppe	25
---------	-------------------	----

2.3.2.9	abgeheilte Leberabszesse	25
---------	--------------------------	----

2.3.2.10	andere Erkrankungen	25
----------	---------------------	----

2.3.2.11	Monospezifische Antikörperbestimmung im IFAT	25
----------	--	----

2.3.3	Zusammenfassung der Gruppen, Graphik	26
-------	--------------------------------------	----

2.4	Datenvergleich, Signifikanzberechnungen	26
-----	---	----

2.5	Ergebnisse zu den Untersuchungen	27
-----	----------------------------------	----

2.5.1	Legende zu den Tabellen	27
-------	-------------------------	----

2.5.2	Ergebnisse Latexagglutinationstest	27
-------	------------------------------------	----

2.5.2.1	Tabellarische Ergebnisdarstellung Tab. 1-8	27
---------	--	----

2.5.2.2	Erläuterung zu Tab. 1-8	30
---------	-------------------------	----

2.5.2.3	diagnostische Aussage und Zusammenfassung	31
---------	---	----

2.5.3	Ergebnisse IHAT	34
-------	-----------------	----

2.5.3.1	Tabellarische Ergebnisdarstellung Tab. 12-19	34
---------	--	----

2.5.3.2	Erläuterung zu Ergebnisdarstellung	39
---------	------------------------------------	----

2.5.3.3	diagnostische Aussage und Zusammenfassung	41
---------	---	----

2.5.4	Ergebnisse IFAT (polyvalente Antikörperbest.)	44
-------	---	----

2.5.4.1	Tabellarische Ergebnisdarstellung Tab. 21-28	44
---------	--	----

2.5.4.2	Erläuterung zu Tab. 21-28	49
---------	---------------------------	----

2.5.4.3	diagnostische Aussage und Zusammenfassung	49
---------	---	----

2.5.5	Ergebnis Titerkombination	52
-------	---------------------------	----

2.5.6	Ergebnis IFAT (monospezifische Antikörperbest.)	
-------	---	--

2.5.6.1	Tabellarische Ergebnisdarstellung Tab. 31 u. 32	55
---------	---	----

2.5.6.2	Erläuterung zu Tab. 31 u. 32	58
---------	------------------------------	----

2.5.6.3	diagnostische Aussage und Zusammenf.	58
---------	--------------------------------------	----

3	<u>Diskussion der Ergebnisse</u>	62
---	----------------------------------	----

4	<u>Kurzübersicht</u>	64
---	----------------------	----

5	<u>Literatur</u>	65
---	------------------	----

1 Einleitung und Problemstellung

Am Institut für Infektions- und Tropenmedizin der Universität München werden seit dem 1.4.1975 serologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen *Entamoeba histolytica* durchgeführt.

Mit der Zunahme des berufsbedingten und privaten Reiseverkehrs wird am hiesigen Institut auch eine häufigere Erkrankung an Amöbiasis beobachtet.

Neben dem direkten Amöbennachweis im Stuhl des Patienten werden serologische Untersuchungsverfahren als wichtiges diagnostisches Hilfsmittel verwendet.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung bestand darin, die klinische Bedeutung verschiedener in unserem Hause durchgeführter serologischer Untersuchungsverfahren zur Amöbiasis unter Routinebedingungen festzustellen. Zu Beginn der Untersuchungen wurden zunächst vier verschiedene Tests in der Regel gleichzeitig durchgeführt:

- Immunfluoreszenz-Test (IFAT, resp. IIFAT)
- indirekte Hämagglutination (IHA, resp. IHAT)
- Latexagglutinations-Test (Serameba, Fa. Ames Company)
- Gegenstromelektrophorese

Dabei handelt es sich bei dem IFAT und IHAT um eine quantitative Antikörper-Titerbestimmung, der Latexagglutinations-Test und die Gegenstromelektrophorese geben qualitative Positiv/Negativ-Aussagen.

Wegen offensichtlich schlechter Korrelation mit der Klinik wurde die Gegenstromelektrophorese aufgegeben.

Es galt der Frage nachzugehen, welche diagnostische Aussage der Amöben-Immundiagnostik bei gesunden und erkrankten Rückkehrern aus *Entamoeba histolytica*-Endemiegebieten zukommt. Bei erkrankten Personen kam es auf die Vergleichbarkeit der sero-diagnostischen Aussage der Erkrankung an.

Die Kombination mehrerer serologischer Untersuchungsverfahren sollte untersucht werden, um eine Präzisierung der diagnostischen Aussage zu prüfen. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen stellte sich die Frage, inwieweit auch auffällige serologische Ergebnisse bei gesunden Personen erklärbar sind (2.5.6).

1.1 Übersicht zur Amöbiasis

1.1.1 Definition

Mit Amöbiasis werden latente und klinisch manifeste Infektionen durch *Entamoeba histolytica* bezeichnet. Hierbei handelt es sich gegenwärtig noch um eine morphologische Definition. Es wird vorgeschlagen, von einem *Entamoeba histolytica*-Komplex zu sprechen (13), der sämtliche menschliche Amöben mit vierkernigen Cysten erfaßt, da Unterschiede in der Virulenz (44,50) und damit in der pathologischen Bedeutung sowie elektronenmikroskopisch erfaßbare morphologische Unterschiede (45) bekannt sind.

Entamoeba histolytica

Gattung: *Entamoeba*
Familie: *Endamoebida*
Ordnung: *Amoebida*
Klasse : *Rhizopoda*
Stamm : *Protozoa*

1.1.2 Verbreitung

Der Erreger tritt weltweit auf und kommt häufig in südlichen und tropischen Ländern vor. Nach WHO-Schätzungen sind etwa 10 % der Weltbevölkerung mit *Entamoeba histolytica* infiziert. Meist handelt es sich dabei um einen harmlosen Cystenbefall (50). In gemäßigten Zonen werden 1 - 5 % (14), in endemischen Gebieten - besonders unter ungünstigen hygienisch-sanitären Bedingungen - werden

Infektionen von 20 - 70 % und sogar 100 % angegeben (7,13,42). Bei Untersuchungen an Rückkehrern gaben 43,09 % Durchfall während ihres Tropenaufenthaltes an, bei diesen Durchfallpatienten ergaben sich immerhin 11,6 % gesicherte Amöbeninfekte, bezogen auf die Gesamtuntersuchungen (39). Die Angaben zur Häufigkeit von Infektionen schwanken stark, was mit der Wahl der Stichproben, den angewandten Untersuchungsmethoden, der Laboratorien und der Qualität zusammenhängt. Eine bessere Orientierung zur Häufigkeit der Krankheit wird in serologischen Verfahren gesehen (21,33). Autochthone Erkrankungen von Personen, die sich nie in südlichen oder endemischen Gebieten aufgehalten haben, sind sehr selten (18,37).

Mit der Zunahme des Tourismus und des Reiseverkehrs auch im Zusammenhange internationaler wirtschaftlicher Verflechtungen treten bei uns immer häufiger Amöbeninfektionen auf.

1.1.3 Pathogenese

Als bedeutungsvolles epidemiologisches Reservoir gelten gesunde Personen, die latent Cysten ausscheiden; selten kommen einige Tierspezies als Cystenausscheider in Betracht (13,49).

Die *Entamoeba histolytica* gilt als fakultativ pathogen.

1.1.3.1 Excystation:

Die vierkernigen Cysten als Dauerform gelangen mit der Nahrung in den Magen, passieren dort im Unterschied zu den in der Außenwelt nur wenige Minuten überlebensfähigen Trophozoiten (den vegetativen Minuta- und Magnaformen) die saure Magenbarriere und gelangen in den Dünndarm. Im Ileum oder Kolon reißt die Cystenmembran unter Trypsineinwirkung. Die vierkernige Amöbe teilt sich so dann in acht einkernige, bewegliche Amöben. Die typischen bruchsackartigen Pseudopodienbewegungen werden erst in neutralem oder leicht alkalischem Milieu erkennbar (13).

1.1.3.2 Minutaform:

Die Excystation, Wachstum und weitere Vermehrung durch Zweiteilung, hängen ferner von der Anwesenheit bestimmter Bakterien ab, wobei einige hemmend, andere fördernd wirken. Diese kommensalisch lebenden vegetativen Formen werden als Minutaformen bezeichnet. Die Ernährung besteht aus Faecespartikel und Bakterien (31).

1.1.3.3 Encystation:

Nach Mitwanderung mit den Faeces im Dickdarm bildet sich, möglicherweise als Folge der Dehydrierung oder Änderung des Darminhaltes, über ein unbewegliches praecystisches Stadium dann wieder die Cyste mit fester Membran, die ausgeschieden wird und je nach den äußeren Bedingungen, wie z.B. Temperatur und Feuchtigkeit, wenige Tage bis mehrere Wochen lebensfähig ist (13).

1.1.3.4 Magnaform:

Unter nur teilweise geklärten Faktoren kommt es im Dickdarm zur biologischen Umwandlung der kommensalisch lebenden Amöben. Als solche Faktoren werden genannt: Zahl der Parasiten, ferner Virulenz, Diätänderungen wie cholesterinreiche Diät, Avitaminose oder Fischdiät, Dickdarmflora, insbesondere solche, die dem Epithel schaden und damit eine Invasion begünstigen, ferner Resistenz und andere Darmerkrankungen des Wirtes (13, 328ff.). Die Parasiten vergrößern sich auf das 2-10fache und stellen ihre Ernährung auf Schleim der Epithelzellen und Erythrocyten um. Die amöboide Bewegungsfähigkeit ermöglicht mit jetzt ausgeprägteren Pseudopodien neben proteolytischen Aktivitäten (Polysaccharasen und Hyaluronidasen) die Cytolyse und Invasion in das Gewebe (25).

1.1.3.5 Primäre Abszeßbildung:

Die so geschaffenen intestinalen Eintrittspforten werden sekundär bakteriell kontaminiert. Es entstehen koagulationsnekrotische Bezirke mit umgekehrt trichterförmiger Erweiterung in das Gewebe bei nadeldünner ca.

1 mm großer Öffnung im Umwallungsbezirk der Mukosa, später dann bis zu 10 mm große Ulcerationen und wabenförmiges Ulcuspuster. Folgen sind Entzündungsreaktionen, Blutungen, Reizungen des Meisserschen und Auerbachschen Nervenplexus mit Störungen der Darmperistaltik, Steigerung der Mukusproduktion, Schmerzen und Krämpfen (16).

1.1.3.6 Sekundäre Abszeßbildung:

Nach Einwanderung in die Lymphgefäße und Capillaren sind Verschleppungen der Parasiten möglich. Während Lymphadenopathien bei der Amöbiasis nicht ausgeprägt sind, steht der Leberabszeß als Folge einer Absiedlung über die Pfortader ganz im Vordergrund. Cytolyse, konfluierende Nekroseherde können die Glissonsche Kapsel durchbrechen und den Parasiten den Weg für die Besiedlung anderer Organe freimachen (13, 344ff.).

Direkte Überwanderung z.B. im Anus- oder Genitalbereich, auch in Umgebung einer Kolostomie, führen zur kutanen Amöbiasis (53).

1.1.4 Klinisches Bild

1.1.4.1 Intestinale Amöbiasis

Die Symptomatologie ist unterschiedlich und nicht spezifisch.

Nicht selten haben Personen mit parasitologischem Nachweis von Cysten und/oder Minutaformen keinerlei Beschwerden und normal geformten Stuhl. Der Patient erinnert sich auch häufig nicht mehr an Diarrhoen oder gastrointestinale Beschwerden während seines Tropenaufenthaltes.

Ausgeprägte Diarrhoen mit wässrigen Stühlen heilen oft spontan und bleiben ein einmaliges Ereignis (eigene Unters., 13).

1.1.4.1.1 Akute Amöbenruhr

Im Unterschied zum stürmischen Einsetzen der Bakterienruhr mit Fieber und heftigen Durchfällen, tritt bei der Amöbenruhr im Normalfall kein Fieber auf.

Abdominelles Druckgefühl, Übelkeit, jedoch kein Erbrechen sind Frühsymptome. Der Stuhl ist zunächst noch geformt oder breiig mit aufgelagertem Schleim. Später wird der Stuhl dünner, der Schleim nimmt zu und kann als Ausdruck einer beginnenden ulcerierenden Rectocolitis zunehmend blutig tingiert sein. Die Zahl der täglichen Entleerungen schwankt zwischen fünf und acht, selten mehr als zehn. Bei weiterem Fortschreiten der Erkrankung wird das Allgemeinbefinden beeinträchtigt. Kolikartige Leibschmerzen und Tenesmen treten nicht mit der bei der Bakterienruhr beobachteten Heftigkeit auf. Ein Dysenteriesyndrom ist in Europa selten Ausdruck einer Amöbiasis, es wird dagegen in den Tropen bei ca. 1/3 der Fälle beobachtet. Die häufigen kleinen Blutverluste führen zu leichter bis mittelschwerer Anämie (13, 348ff., eigene Unters.). Bei den seltenen schwersten Verlaufsformen (amibiase colique suraigue mortelle), die früher praktisch immer im akuten Stadium ad exitum führten, sind meist anaerobe Bakterien als Begleitinfektion beteiligt, es kommt zu ausgedehnten gangränösen Veränderungen der Kolonwand (41).

Intraabdominelle Komplikationen können in jedem Stadium vorkommen: Lokal gedeckte Peritonitis, Abszesse, Perityphilitis, Fistelbildungen, diffuse Peritonitis als Folge einer Darmperforation.

Die Erkrankung kann auch da Bild einer akuten Appendicitis vortäuschen resp. verdecken.

Oft verlaufen die Infektionen aber auch mild oder zeigen spontane Heilungstendenz, Rezidive kommen vor (13).

1.1.4.1.2 Chronische Amöbenruhr

Neben beschwerdefreien Intervallen wechseln sich Obstipation mit hartem, manchmal mit Mucus und Blutstreifen

bedeckten Stühlen mit Diarrhoeepisoden ab. Geblähtes Abdomen, Beschwerden im Kolonbereich, besonders auch in Ileocoecalgegend und spastisches Descendens und Sigmoid begleiten die Intervalle. Atypische Symptome wie z.B. leichte körperliche und geistige Ermüdbarkeit, Schwitzen bei leichteren Anstrengungen, psychische Auffälligkeiten z.B. auch depressive Verstimmungen, treten besonders bei langjährigen Verlaufsformen auf. Ein Übergang in akute Symptomatik ist jederzeit möglich (13).

1.1.4.1.3 Amöbom

Selten kommt als intestinale Komplikation das Amöbom vor, eine lokalisierte pseudo-tumorale Verdickung des Kolons als Folge einer entzündlich-granulomatösen oder fibrinösen hyperplastischen Bindegewebsreaktion. Die Klinik ähnelt der chronischen Kolitis. Es besteht Tendenz zur Dickdarmobstruktion mit Subilius bzw. Ileus-symptomatik. Es kann das Bild eines Karzinoms vorge-täuscht werden (13).

1.1.4.2 Extraintestinale Amöbiasis

1.1.4.2.1 Amöbenleberabszeß

Unter den extraintestinalen Komplikationen der Amöbenruhr steht der Amöbenleberabszeß ganz im Vordergrund. Solche Abszesse können nach wenigen Wochen, aber auch erst nach zwei bis fünf Jahren, nach Infektion in Erscheinung treten. Verschleiert wird die Entstehung dieser Abszesse häufig durch milde verlaufende Darminfektionen, an die sich der Patient z.B. auch nicht erinnert. Klinische Leitsymptome sind oft dumpfer Schmerz im rechten Hypochondrium, Leberkapselspannungsschmerz und/oder Lebererschütterungsschmerz, Zwerchfellhochstand, verminderte Zwerchfellverschieblichkeit als Ausdruck einer Schonstellung bei Atmung. Lunge und Pleura reagieren häufig in Form basaler Infiltrationen und kostophrenischer Ergüsse mit, und können zu Fehl-

diagnosen verleiten. Je nach Ausdehnung der Erkrankung kommt es bei einem Teil der Patienten über Phrenicusreizung auch zu Schmerzen in der rechten Schulter. Die Leberschwellung kann nicht nur als Folge des Leberabszesses gesehen werden, sondern tritt als Begleithepatopathie (Amöbenhepatose) auch bei intestinalen Erkrankungsformen auf.

Alle Arten von Temperaturverläufen, subfebrile, remittierende, ondulierende und intermittierende können beobachtet werden. Eine Kolitis oder Dysenteriesyndrom kann noch bestehen. Der Allgemeinzustand der Patienten ist in der Regel deutlich verschlechtert, Abgeschlagenheit und Gewichtsverlust vermitteln den Aspekt der ernstesten Erkrankung.

Neben perakuten Verläufen mit Perforationen innerhalb weniger Tage gibt es über einige Wochen und Monate verlaufende Krankheitsbilder mit Schüben und Remissionen sowie chronische, relativ symptomlose ruhende Abszesse. Selbstheilungen gelten aus Ausnahme. Gefährlich sind spontane oder posttraumatische Exacerbationen (13, 355ff.).

1.1.4.2.2 Andere Amöbenabszesse

Amöbenabszesse anderer Organe sind in der Regel Komplikationen von Leberabszessen. Nach Durchbrüchen des häufiger befallenen rechten Leberlappens entwickelt sich die pleuropulmonale Amöbiasis, hepatobronchale Fisteln und Lungenabszesse. Hohe Letalität haben Rupturen der selteneren Abszesse des linken Leberlappens in die Perikardhöhle. Diese und weitere Durchbrüche in die der Leber benachbarten Organe sind ebenso wie metastatische Verschleppungen nach Gefäßwanddurchbruch, z.B. Milz, Pancreas, Lunge, Gehirn, sehr selten und kommen in der Regel bei Patienten in bereits erheblich abwehrgeschwächtem Zustand vor. Bakterielle Superinfektionen können spontan vorkommen, sind aber häufiger iatrogener Ursache (Punktionen) (13, 357ff.).

1.1.5 Diagnose

In unseren Breiten steht zunächst die Anamnese mit Fragen nach Aufhalten in südlichen Ländern und Symptomen an vorderer Stelle.

1.1.5.1 Intestinale Amöbiasis

Nur der parasitologische Nachweis bei Darmlumeninfektionen und akuter Darmamöbiasis sichert die Diagnose. Bei Stuhluntersuchungen im akuten Zustand werden in der Regel im Nativpräparat bereits vegetative Formen von *Entamoeba histolytica* gefunden.

Bei symptomlosen Darminfektionen und chronischer Darmamöbiasis sollen Mehrfachkontrollen durchgeführt werden, abführende Maßnahmen erleichtern den Nachweis. Färbungen der Präparate (z.B. nach Heidenhain) und Stuhlanreicherungsverfahren (z.B. Merthiolate - Jodine - Formaldehyd - Concentratione) sind notwendig, auch um apathogene Amöbenarten von *Entamoeba histolytica* unterscheiden zu können (1.1.6).

Die Rectoskopie oder Coloskopie erlaubt die lokale Darmwandbeurteilung. Bei Entnahme von Schleimflocken finden sich hierin oft reichlich Erreger, ebenso lassen sich Amöben im Biopsiematerial der Mucosa finden.

Röntgenuntersuchungen des Kolon können keine amöbenspezifische Aussage zu Kolitis oder Amöbom bringen, bleiben aber für die Beurteilung von Ausdehnung und Verlauf der Erkrankung wesentlich. Serologische Untersuchungsverfahren eignen sich besonders bei invasiveren Verlaufsformen und sollten auch zur Ausschlussdiagnostik von Organmanifestationen verwendet werden. In der vorliegenden Arbeit wird hierauf gesondert eingegangen (eigene Unters. 13, 368ff.)

1.1.5.2 Extraintestinale Amöbiasis

Die Immundiagnostik steht zur Diagnose einer extraintestinalen Amöbiasis an vorderster Stelle, zumal sich

bei diesen Erkrankungen meist keine Amöben im Stuhl oder in der Darmschleimhaut nachweisen lassen (13, 366ff.). Sonographische, szintigraphische und computertomographische Untersuchungen lokalisieren einen Abszeßbefund bei einer bestimmten Größe je nach Auflösungsvermögen der angewandten Methode. Röntgenuntersuchungen zeigen häufig Zwerchfellhochstand rechts sowie gelegentlich Pleuraerguß, rechts basal.

Bei chirurgischen Eingriffen und Punktionen von Leberabszessen ist der meist sterile Abszeßinhalt ein wichtiges differenzialdiagnostisches Kriterium gegenüber pyogenen Abszessen. Der Erregernachweis gelingt vorwiegend in der Randzone eines Lysebereiches bzw. an einer vorhandenen Abszeßwand. Als Folge der Lyse von Leberparenchym und Kapillaren findet sich ein zunächst schokoladenkremartiges Material, mal flüssiger, mal fester mit fensterkittartiger Konsistenz; gelegentlich ist die Farbe heller bis bräunlich-gelblich, so daß der Leberabszeß bereits makroskopisch zu deuten ist.

Auch serologische Untersuchungsverfahren des Abszeßinhaltes ermöglichen den Nachweis von Amöben-Antikörpern und sichern die Diagnose (34,35).

Die hämatologischen und blutchemischen Befunde sind wenig charakteristisch. Die Transaminasen sind bei Leberabszeßerkrankungen meist nur mäßig erhöht. Häufig tritt im Unterschied zur intestinalen Amöbiasis eine stark beschleunigte Blutsenkungsgeschwindigkeit und deutliche Leukocytose auf (eigene Unters.).

1.1.6 Apathogene Amöben

Neben *Entamoeba histolytica* werden mindestens fünf andere Amöbenarten beim Menschen gefunden, die nicht als pathogen gelten, jedoch leicht mit dem Amöben-Ruhrerreger verwechselt werden können,

- *Entamoeba hartmanni*
- *Entamoeba polecki*

- *Entamoeba coli*
- *Endolimax nana*
- *Jodamoeba bütschlii*
- *Entamoeba gingivalis*

Unterscheidungsmerkmale sind Größe, Struktur (Kernchromatin), Einschlüsse im Protoplasma sowie Beweglichkeit, also morphologische Kriterien (1.1.1).

Alle Amöben besiedeln kommensalisch den Dickdarm, ausgenommen *Entamoeba gingivalis*, ein Mundhöhlenparasit. Die *Dientamoeba fragilis* wird nicht den Rhizopoden zugerechnet, gleicht aber morphologisch den Amöben, wird relativ selten im Stuhl gefunden und gilt ebenfalls nicht als Krankheitserreger (13, 330ff.).

1.2 Übersicht zur Immundiagnostik

Entamoeba histolytica produziert schwache Antigene. Der Nachweis von Antikörpern bei Patienten mit Amöbenruhr gelang 1921 (Scalas (46)) mit einer positiven Komplementbindungsreaktion. Wegen der verwendeten Antigene aus unreinen Kulturen blieb die Interpretation der Serologie wenig spezifisch und widersprüchlich. Mit der Herstellung von Antigenen aus *Entamoeba histolytica* Kulturen ohne Mikroorganismen (Diamond (4,5,6)) wurden übereinstimmende Resultate zwischen Parasitenachweis und Serologie möglich (ind. Hämagglutination, Kessel (27)).

Seit Beginn der 60er Jahre wurde eine Reihe von immundiagnostischen Verfahren eingesetzt und entwickelt (21,33,44,50). Das Ziel bestand darin, über den Antikörpernachweis von heterologen Amöbenantigenen verbesserte Aussagen zur Epidemiologie (23,28,35,49) und zur Diagnose sowie insbesondere zur Differenzierung der verschiedenen Erkrankungsformen (s.a. 11,12,22, 26,36,38) zu erhalten.

1.2.1 Serologische Methoden

(54,8, u. Immunbiologische Arbeitsmethoden, H.Friemel 1976, Jena)

Zur Verwendung kamen

- verschiedene Hauttests (z.B. Testung mit Histolytizin (54))
- Agar-Gel-Tests (Geldiffusion, Kapillarpräzipitation, Immunelektrophorese, Gegenstromelektrophorese)
- Agglutinationsmethoden (Indirekter Hämagglutinationstest, Betonoit-Flockkulationstest, Latex-Agglutinations-Test)
- Komplementbindungsreaktionen (KBR)
- indirekte Immunfluoreszenz (IFAT)
- Immunglobulinbestimmung (52 und A.Dasgupta: Clin. Exp. Immunol. (1974)163
- Elisa (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Die folgende Tabelle von Enders et al. 1976 (8) gibt eine vergleichende Darstellung der aus der Literatur erfaßbaren Daten zur Effizienz einzelner Tests.

Hiernach gelang z.B. der Nachweis der invasiven Verlaufsform der Amöbiasis bei der indirekten Hämagglutination (IHA) zu 85 - 95 % bei der Amöbenruhr, zu 90 - 100 % bei Leberabszessen. Der indirekte Immunfluoreszenztest zeigt ähnliche Ergebnisse, der Latex-Test liegt bei diesen Untersuchungen ebenfalls in einem sehr hohen Empfindlichkeitsbereich. Wie weit sich die Tests diagnostisch unter Routinebedingungen verwerten lassen, läßt sich aus dieser Tabelle auch deshalb nicht klären, da für den Teil der intestinalen Verlaufsformen z.B. keine Angaben über die Höhe der Verdünnungsstufen vorliegen, sondern lediglich zusammenfassende Beobachtungen.

Sensitivity of immunological test methods in *E. histolytica* invasions (published data)

Immunological test	Author	Sensitivity %		
		Symptomatic intestinal amoebiasis (acute dysentery, colitis)	Extraintestinal amoebiasis (involvement of liver and other organs)	Asymptomatic cyst carriers
Gel diffusion	Maddison, 1965 ³⁴ , 1968 ³⁵ Powell et al., 1965 ³⁶ Halpern et al., 1967 ² Kotcher et al., 1970 ³⁷	80 - 95	90 - 95	< 15
Counter electrophoresis	Sepulveda, 1971 ³⁸ , 1972 ⁴⁰		95	
Immunoelectrophoresis	Savanat et al., 1969 ⁴¹	65 - 70	> 95	
Tube precipitin test	Powell, 1968 ³⁸	85 - 90	> 95	
Indirect hemagglutination	Kessel et al., 1961 ¹² , 1965 ²³ Halpern et al., 1967 ² Healy, 1968 ¹⁷ , 1972 ²¹ Kotcher et al., 1970 ³⁷	85 - 95	90 - 100	5 - 15
Latex-Agglutination	Morris et al., 1970 ⁴² , ⁴³	95	95 - 100	
Bentonite flocculation	Tupasi et al., 1970 ⁴⁴	86	93	
Complement fixation	Craig, 1937 ⁴⁵ Kessol, 1965 ²³	80 - 95	85 - 100	
Immunofluorescent-antibody-test	Beltran et al., 1965 ⁴⁶ Ambroise-Thomas, 1972 ⁴⁷	75 - 90	90 - 100	15
Immobilization test	Biagi et al., 1961 ⁴⁸ Prakash et al., 1969 ¹⁸	< 80	85 - 90	
Intradermal test	Scalas, 1923 ⁴⁹			
immediate type	Wharton et al., 1967 ⁵⁰	70	70 - 75	6
delayed type	Maddison et al., 1968 ³⁵	30	25 - 33	10

1.2.2 Problematisierung der serologischen Verfahren

Die angewandten Methoden unterscheiden sich in der Empfindlichkeit und Spezifität der Immunreaktionen (8,11).

So werden z.B. Mitreaktionen bei Agglutinationsverfahren durch andere Erkrankungen beschrieben (12,9) und von uns beobachtet (2.5.2.3).

Antikörper persistieren unterschiedlich lange:

Während im IFAT nach Operation oder Behandlung eines Amöbenleberabszesses in wenigen Monaten ein Titerabfall beobachtet wurde, bleibt auch nach Therapie der Latex Agglutinationstest länger positiv (1,51). Auch für IHAT und KBR werden Persistenzen bis zu einem Jahr angegeben (9), wobei "Grenztiter" bei hohen Titern naturgemäß später erreicht werden. (Siehe auch 2.5.3.3 und 2.5.4.3 sowie 4 dieser Arbeit.)

Ferner wird ein Titerabfall in Abhängigkeit zur Lagerungszeit der Seren (auch tiefgefroren) beschrieben (23) und von uns beobachtet (2.1.4.3).

Reinfektionen, beginnende Erkrankungen, inapparente Infektionen und individuelle Verlaufsunterschiede sind neben Laborqualität Ursachen für Unterschiede bei serologischen Ergebnissen und klinischem Korrelat (47). Ein einzelner serologischer Test reicht nach vielfältigen Untersuchungen nicht aus (1,36), auch bei Anwendung mehrerer Tests können bei einigen Untersuchungen die Ergebnisse der Reaktionen nur dann verwertet werden, wenn sie mit der Klinik und der Exposition in Einklang zu bringen sind. Andere Autoren beobachteten erst nach vier parallel laufenden unterschiedlichen Tests zu einem Krankheitsbild keinen Versager (36).

2 Eigene Untersuchungen

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Serameba-Test (Fa. Ames Company)

2.1.1.1 Reagenzien

Amöben-Antigen aus gereinigtem, gefriergetrocknetem, standardisiertem Antigen, das benötigt wird, um das Latex und 2 % nichtreaktiven Stabilisator empfindlich zu machen (weiße Ampulle 0,1 ml); standardisierte Latex-Suspension in physiologischer Kochsalzlösung (blaue Ampulle 0,5 ml); positives Kontrollserum aus gefriergetrocknetem Humanserum (rote Ampulle zu 0,2 ml aufzubereiten); negatives Kontrollserum aus gefriergetrocknetem Humanserum (grüne Ampulle zu 0,2 ml aufzubereiten mit dest. Wasser).

2.1.1.2 Zur Technik

Die positiven und negativen Kontrollseren sind mit 0,2 ml dest. Wasser zu mischen.

Das Patientenserum sollte klar und frei von Partikeln sein, die gegebenenfalls abzentrifugiert werden müssen, Hämoglobin oder Gallenfarbstoffe beeinflussen die Reaktion nicht.

Beide Kontrollseren und das Patientenserum werden vor Gebrauch 20 min in einem 56° C warmen Wasserbad aufgewärmt.

Die Sensibilisierung des Latex erfolgt durch sorgfältiges Mischen der Latex-Suspension in der Ampulle des gefriergetrockneten Amöben-Antigens. Das gesamte Antigen sollte gelöst werden, bis zum Gebrauch sind fünf Minuten zu warten.

Als Reaktionsplatten dienen gereinigte Objektträger, auf denen nebeneinander fünf Reaktionsfelder aufgetragen werden können. Zunächst werden fünfmal 0,025 ml der aufbereiteten sensibilisierten Latex-Suspension

aufgetropft. Gleichgroße Tropfen der positiven, negativen Kontrollseren und drei Patientenseren werden mit jeweils neuen Pipetten dicht neben die vorgegebenen Tropfen gegeben. Mit jeweils verschiedenen Rührstäben werden die aneinanderliegenden Tropfenpaare sorgfältig vermischt, die Platten danach fünf Minuten vorsichtig per Hand geschüttelt.

2.1.1.3 Auswertung

Eine positive Reaktion liegt vor, wenn innerhalb von fünf Minuten nach Vermischen der Tropfen das Latex agglutiniert ist. Im Unterschied zur negativen Reaktion erkennt man eine Agglutination an den durchscheinenden Reaktionsfeldern, die je nach Durchsichtigkeit mit +, ++, oder bei deutlichem Durchscheinen mit +++ notiert werden können. Eine negative Reaktion agglutiniert innerhalb fünf Minuten nicht, das Reaktionsfeld erscheint undurchsichtig.

Das Prinzip dieser immunchemischen Reaktion basiert auf der Agglutinationsfähigkeit der polystyrenen Latexpartikel, die in einer normalen Kochsalzlösung gelöst und mit Antigenen aus axenisch gezüchteten *Entamoeba histolytica* vermischt sind.

Nicht agglutiniertes Latex erscheint homogen weiß, agglutinierte Latexpartikel werden flockig.

2.1.2 Indirekte Hämagglutination (IHAT)

2.1.2.1 Reagenzien

Amöbiasis-IHA-Reagenz (Fa. Behring Institut).

Aus Kulturtrophozoiten axenisch gezüchteter *Entamoeba histolytica* isoliertes lösliches und gereinigtes Antigen, das an stabilisierte Erythrozyten gebunden wird. Reagenz in lyophilisierter Form. Tris-Pufferlösung pH 8,0, positives Amöbiasis-Kontrollserum aus Ziegen-Immunserum, stabilisiert und lyophil getrocknet, positives Kontrollserum, negatives Kontrollserum aus flüssigem stabilisiertem Human-Mischserum.

2.1.2.2 Technik

Verwendet wurden Mikrotitrationsplatten, bei denen die erste Reihe der IHA-Reagenz-Kontrolle, die zweite dem positiven Kontrollserum, die dritte dem negativen Kontrollserum vorbehalten wurde.

Die erste Reihe sollte möglichst Erythrocyten ohne Antigene enthalten, damit Agglutinationen durch Fremderythrocyten ausgeschlossen werden können (2.5.3.3).

Die übrigen Reihen 4 bis 8 dienen zur Bestimmung unbekannter Patientenseren.

0,05 ml Tris-Puffer wird mit einer Tropfpipette in alle acht Reihen eingetropft, die ersten Mikrobehälter einer jeden Reihe bleiben leer. In den ersten Mikrobehälter der Reihe 2 werden mit einer 1,0 ml-Pipette 0,1 ml einer 1:8 Verdünnung des pos. Kontrollserums eingetropft, ebenso in Reihe 3 0,1 ml einer 1:8 Verdünnung des neg. Kontrollserums sowie in den übrigen Reihen 1:8 Verdünnungen der zu prüfenden Patientenseren.

Mit 0,05 ml Mikrodilutoren wurden durch Drehen und Übertragen von 0,05 ml von Mikrobehälter zu Mikrobehälter geometrische Verdünnungsreihen (1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 etc.) hergestellt.

Es wird mit einer 0,025 ml Tropfpipette IHA-Reagenz (0,025 ml) zugegeben und anschließend mit einem Vibrator gut gemischt.

Beurteilung des Testes nach zwei Stunden bei Raumtemperatur stehengelassener, nicht nochmals geschüttelter Titratingsplatten.

2.1.2.3 Auswertung des Testes

Vollständige Agglutination der Zellen zeigen ein positives Ergebnis an, Agglutinationen mit geringer Knopfbildung + bis +++ sind schwach positiv, sedimentierte Zellen (Knopfbildung) zeigen ein negatives Ergebnis an.

2.1.3 Immunfluoreszenztest (IFAT)

2.1.3.1 Reagenzien

Patientenseren, Amöbiasis Antigen Suspension aus gewaschenen *Entamoeba histolytica* (Fa. Wellcome), als Konjugat polyvalentes Fluoreszenz-Anti-Human-Immunglobulinreagenz, Phosphatpuffer (PBS) pH 7,6, Glycerinpuffer pH 8-9, Evans blue, Methylalkohol.

2.1.3.2 Zur Technik

Auf gereinigte Objektträger werden entsprechend der später herzustellenden Verdünnungsreihen je acht Glycerintropfen aufgebracht, diese mit Teflonspray über-schichtet, mit Wasser abgespült und getrocknet. Die so erhaltenen Aussparungen dienen als Auftragungs-orte für die Amöbiasis Antigen Suspension (Wellcome).

Nach Lufttrocknen wurde in unverdünntem Methylalkohol 10 Minuten lang fixiert, die nicht sofort verwendeten Objektträger bei -15°C aufbewahrt.

In Mikrotiterplatten werden Verdünnungsreihen aus den Patientenseren und PBS mit Mikrodilutoren in den Verdünnungsreihen 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 und 1:640 hergestellt und jedes schrittweise verdünnte Patientenserum auf die mit Amöbiasis-Antigen-Suspension vorbereiteten Objektträger in entsprechender Reihen-folge gegeben.

Die so behandelten Objektträger kommen 30 Minuten in eine feuchte Kammer, wobei sich nun im Falle vorhan-dener Antikörper im Patientenserum mit den zugegebenen Antigenen ein (unmarkierter) Komplex bildet.

Weiter werden danach die Überstände mit Wasser abge-duscht, in drei Pufferlösungen je 5 Minuten nacheinan-der gereinigt und mit dest. Wasser gespült, danach z.B. mit Filterpapier getrocknet.

Um die nun bislang unmarkierten AG-AK-Komplexe mit dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar zu machen, wurde nunmehr auf die Aussparungen der Objektträger fluoreszenzmar-

kieretes Antihumanglobulin (vom Kaninchen) mit Evans blue und Puffer versetzt aufgetragen (Sandwichmethode). Erneutes 30-minütiges Aufbewahren in der feuchten Kammer fördert die Reaktion, der Komplex wird markiert. Anschließend wieder wässern, dreimalig puffern und mit dest. Wasser reinigen. Nach Trocknen werden die Objektträger mit Glycerinpuffer betropft, eingedeckelt und im Fluoreszenzmikroskop betrachtet (mit Anregungsfilter für Fluoreszenzerregung mit langwelligem Ultraviolett und Schwerpunkt bei 366 nm).

2.1.3.3 Zur Auswertung

Um Unterschiede bei den jeweiligen Testserien beurteilen zu können, wurden zu den Serien Kontrollserien angefertigt; damit können auch Veränderungen in der optischen Einrichtung, wie etwa eine schwächer werdende Lichtquelle, erkannt werden.

Im Bild des Fluoreszenzmikroskops erscheinen die Amöben rot und im Falle vorhandener Antikörper wird der markierte Komplex an der Oberfläche der Amöben als leuchtend grüner Belag erkennbar, der insbesondere an den Rändern der Amöbe als strahlende Umrandung sichtbar wird, wobei das Zentrum der Amöbe rot gefärbt bleiben kann. Mit zunehmend schwächer werdender Antigen-Antikörper-Reaktion nimmt die Intensität des grünen Leuchtrandes ab und die grüne Umrandung wird schmaler, im weiteren Verlauf wird auch die Umrandung unterbrochen, was ein sicherer Hinweis auf negativ zu beurteilende Reaktion in Verbindung mit abnehmender Leuchtkraft ist. Dabei muß stets die Mehrzahl solcher Amöben im Sichtfeld der Aussparung betrachtet werden, da nicht jede einzelne Amöbe typisch lichtdurchlässig ist. Bei eindeutig negativer Reaktion haben die Amöben eine ausschließlich tiefröte Färbung.

Beim Ablesen der selben Testserien im Fluoreszenzmikroskop durch drei verschiedene Personen haben wir Abwei-

chungen um einen Empfindlichkeitsbereich beobachtet. Die Subjektivität des Beobachters führt also auch zu Fehlerquellen.

2.1.4 Monospezifische Antikörperbestimmung gegen Amöbenantigene im Immunfluoreszenztest

Das Verfahren zur Herstellung der Objektträger gleicht im Prinzip (Sandwichmethode) der bereits unter 2.1.3 beschriebenen Methode. Die Unterschiede sind:

2.1.4.1 Reagenzien

Statt eines polyvalenten Fluoreszenz-Anti-Human-Immunglobulins wurde jedes zu untersuchende Serum nun sowohl mit Anti-Human-Ig G, Anti-Human-Ig A, als auch Anti-Human-Ig M (Fa. Wellcome) als Konjugat - also dreimal pro Patientenserum - behandelt.

2.1.4.2 Technik

Die geometrischen Verdünnungsreihen beginnen bei diesen Untersuchungen bereits bei einer Verdünnung von 1:5, um Antigen-Antikörper Reaktionen auch in diesem Bereich noch zu erfassen.

2.1.4.3 Auswertung

Die fluoreszenzmikroskopische Auswertung unterliegt den gleichen Beurteilungsmaßstäben wie unter 2.1.3.2 beschrieben.

Die noch einmal durchgeführten Kontrollen dieser bereits mit polyvalentem Antihumanglobulin untersuchten Seren ergab diesmal - also nach erneutem zweiten Auftauen der wiedereingefrorenen Seren - bei erneuter Untersuchung mit polyvalentem Antihumanglobulin ein unterschiedliches Ergebnis: Die Antigen-Antikörperkomplexe reagierten nach erneutem Auftauen der selben Seren nahezu durchweg um einen Titerbereich niedriger als bei der Erstuntersuchung, d.h., ein früherer Bereich 1:80 ergab nunmehr 1:40.

2.1.5 Stuhluntersuchung

Die Stuhluntersuchung erfolgte, wenn nötig, dreimalig, um ein Übersehen positiver Befunde möglichst zu vermeiden. Nachdem zunächst das körperwarme Nativpräparat mikroskopisch gesichtet wurde, erfolgte zur parasitologischen Identifizierung die Färbung des Präparates nach Heidenhain und das Stuhlanreicherungsverfahren mit einer Merthiolat-Jod-Formaldehyd-Konzentration.

2.3 Auswahl der Patienten/Personen

Im Zeitraum vom 1.4.1975 bis 1.4.1978 wurden eine große Zahl von Personen als Rückkehrer aus Endemiegebieten der Amöbiasis untersucht und eine amöben-spezifische serologische Untersuchung sowie Stuhluntersuchungen durchgeführt.

Insgesamt wurden

2.485 Seren mit einem Latexagglutinationstest,
2.089 Seren mit der indirekten Hämagglutination und
2.128 Seren mit dem indirekten Immunfluoreszenztest
untersucht (Tab.1, 12, 19).

Bei dieser Gesamtheit der Rückkehrer lagen nicht immer vollständige Daten vor, da unter anderem ein Teil der Untersuchungen von auswärts eingesandte Seren waren, wobei Klinik und insbesondere der Stuhlbefund selten zu eruieren waren.

Daher wurden aus der Gesamtheit der unbehandelten Rückkehrer nur die Personen ausgewählt, bei denen sich ausreichende Kriterien zur zusätzlichen Befunderhebung (2.3.1) fanden, größtenteils Patienten aus unserem Haus. Während Patienten mit Amöbenleberabszessen und Amöbenruhrpatienten (2.3.2.7, 2.3.2.8 und 2.3.1.4) relativ leicht zu definieren waren, bestand bei Patienten mit Ausscheiden von Cysten- und Minutaformen zunächst das Problem der Zuordnung, wenn diese Patienten auch unter Diarrhoen litten (2.3.1.2). Daher wurden diese Patienten auch zunächst getrennt betrachtet (2.3.2.4,

2.3.2.5). Eine weitere Unterscheidung in nur Cysten-/nur Minutariumpatienten erwies sich als nicht sinnvoll. Viele Ausscheider wiesen gleichzeitig apathogene Amöben (1.1.6) auf, was Veranlassung zur weiteren Untersuchung von ausschließlich Trägern apathogener Amöben (2.3.2.4) war.

Ferner wurde das serologische Verhalten bei gesunden Personen untersucht, die sich nie in einem Endemiegebiet aufgehalten haben (2.3.2.2 und 1.1.2).

Eine große Zahl von Personen, die in letzter Zeit aus Amöbiasis-Endemiegebieten zurückkehrten (2.3.2.3), unterlagen bei uns auch einem Amöben-Screening, insbesondere, wenn in der Anamnese Hinweise auf einen Amöbenkontakt bestand. Dabei fielen immer wieder auch höhere serologische Reaktionen auf, ohne daß nach den übrigen Befunden eine Amöbiasis oder eine andere Erkrankung (Mitreaktionen werden in der Literatur beschrieben (9, 12) hier 2.3.2.10) diagnostiziert werden konnte.

Hier lag der Verdacht nahe, daß es sich möglicherweise um eine früher durchgemachte, selbstausgeheilte Amöbiasis handelte, wobei sich nunmehr Resttiter nachweisen lassen.

Dieses Problem wurde mit der Untersuchung von monospezifischen Antikörpern im IFAT gesondert untersucht (2.4.6).

Soweit sich frühere Erkrankungen identifizieren ließen, wurden sie gesondert erwähnt (2.3.2.9).

2.3.1 Kriterien zur Befunderhebung

2.3.1.1 Anamnestische Angaben

Zeitraum und Ort des Auslandsaufenthaltes, Zeitpunkt der Erkrankung / Symptome, Beschwerden während des Aufenthaltes.

2.3.1.2 Beschwerden zum Zeitpunkt der Untersuchung

Besonders im Gastro-Intestinal-Bereich, Leberstärkungs- oder -druckschmerz, Diarrhoeen-Charakteristik (siehe 1.1.3.5 und 1.1.4.2.1): Hierbei sei besonders darauf hingewiesen, daß die Angaben der Patienten schwer zu objektivieren waren, Angaben zu Schleim im Stuhl oder auch Blut, insbesondere zu früheren Zeitpunkten, waren oft nicht zuverlässig. Diarrhoeen wurden von den meisten Rückkehrern zu irgendeinem Zeitpunkt des Tropenaufenthaltes angegeben.

2.3.1.3 Laborbefund

Stuhlbefunde: neben Entamoeba histolytica-Suche, wurde der Stuhl auf apathogene Amöben, Lamblien, Wurminfektionen und pathologische Bakterien untersucht. Blutchemie: sGOT, sGPT, Y-GT, alk. Phosphatase, ges. Bilirubin, ferner Differenzialblutbild auch zur Differenzialdiagnose bei negativen Stuhlbefunden, um beispielsweise Hinweise auf möglichen Wurmbefall oder eine bakterielle/virale Enteritis zu erhalten; als Entzündungszeichen: BKS, Leukocyten, Elektrophorese.

2.3.1.4 Technische Untersuchungen

Gegebenenfalls wurden proktoskopische oder rektoskopische Untersuchungen durchgeführt. Insbesondere bei Verdacht auf invasive Verlaufsformen (hier Amöbenruhr und Leberabszesse) wurden nach Klinik, Röntgen, Sonographie, Leberszintigraphie, Computertomographie oder auch intraoperative Biopsie und Obduktion veranlaßt oder das Abheilen eines Abszesses, z.B. unter sonographischer Kontrolle, bei spezifischer Therapie beobachtet

2.3.2 Einteilung der Personen/Patientengruppen

2.3.2.1 Gruppe der Rückkehrer insgesamt

Es handelt sich um die oben genannte (2.3) Gesamtheit der Rückkehrer, die in unserem Hause zumindest serologisch untersucht wurde (Tab. 1, 12, 19).

2.3.2.2 Gruppe der Kontrollpersonen

Hier wurde eine Kontrollgruppe von Personen untersucht, die sich nie in einem Amöbiasis-Endemiegebiet aufgehalten haben, also die Alpen südlich nie überschritten haben und keine Reise in andere Endemiegebiete der Amöbiasis unternommen haben (auch 1.1.2).

Diese Personen sind in den Tabellen "Kontrollgruppe" 2 / 13 / 20 erfaßt.

2.3.2.3 Gruppe von Rückkehrern aus Endemiegebieten

Hierbei handelt es sich um eine Personengruppe, die sich wohl in Endemiegebieten aufgehalten hatten, jedoch zum Untersuchungszeitpunkt gesund waren, und auch hier negative Stuhlbefunde aufwiesen (2.3).

"Endemiegruppe" Tabellen 3 / 14 / 21.

2.3.2.4 Gruppe von Ausscheidern apathogener Amöben

Hier wird eine Gruppe von Personen erfaßt, die klinisch keinerlei Beschwerden angaben. Sie kamen alle aus Endemiegebieten und es wurden lediglich apathogene Amöben (hier *Entamoeba coli*; *Endolimax nana* und/oder *Jodamoeba bütschlii*) im Stuhl gefunden (1.1.6).

Tabellen 4 / 15 / 22.

2.3.2.5 Gruppe von Cysten/Minutaform-Ausscheidern von *Entamoeba histolytica* ohne Beschwerden

Es handelt sich um die Zusammenfassung aller Patienten aus der Rückkehrergruppe, die einen asymptomatischen Verlauf der Amöbiasis aufwiesen, d.h. latente Ausscheider von Cysten- oder Minutaformen, evtl. beide Formen, jedoch ohne Diarrhoen.

Tabellen 5 / 16 / 23 "Entamoeba histolytica Ausscheider z.Zt. keine Diarrhoe".

2.3.2.6 Gruppe von Cysten/Minutaform-Ausscheidern (*Entamoeba histolytica*) mit Diarrhoen

Diese Patienten schieden ebenfalls Cysten- und Minutaformen aus, sie gaben zum Zeitpunkt der Untersuchung

und auch in der Vorgeschichte - nur teilweise ruhrty-
pische (1.1.4.2.1 und 2.3.1) - Diarrhoen an.

Tabellen 6 / 17 / 24.

2.3.2.7 Gruppe mit Amöbenruhr

Diese Patienten hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung
(im Durchschnitt ca. 8 - 10 Tage) heftigste dysenteri-
sche Beschwerden mit flüssigen Stühlen und Gewebsfet-
zen, Schleim, Blut im Stuhl, bei denen auch nach Recto-
skopischer Untersuchung mit Abstrich Magnaformen nachge-
wiesen wurden und die unter deutlicher Gewichtsabnahme
litten (invasiv intestinale Amöbenruhr).

Tabellen 7 / 18 / 25.

2.3.2.8 Gruppe mit Leberabszessen

Bei diesen Rückkehrern lag eine gesicherte (2.3.1)
invasive extraintestinale Amöbiasis vor.

Tabellen 8 / 19 / 26.

2.3.2.9 Gruppe mit abgeheilten Leberabszessen

Vier Personen mit abgeheilten Leberabszessen wurden
nachuntersucht und in Tabelle 10 (2.3.2.3) zusammen-
gefaßt.

2.3.2.10 Gruppe mit anderen Erkrankungen

Einige Patientenseren wiesen in den amöbenspezifischen
Agglutinationsverfahren (IHA, Latextest) auffällige
serologische Befunde auf, ohne daß bei diesen Patienten
eine Amöbiasis vorlag.

Bei diesen Spontanagglutinationen ließen sich andere
Erkrankungen nachweisen.

Tabelle 11, 2.3.4.3 .

2.3.2.11 Untersuchung von monospezifischen Antikörpern im IFAT (2.4.6) Tab. 29 / 30

Dazu wurden klinisch gesunde, parasitenfreie Rückkehrer
aus Endemiegebieten ausgesucht, die alle einen Titer von
1:80 und mehr aufwiesen (Tab. 29).

Diese Gruppe wurde mit Patienten verglichen, die an einer
invasiven Amöbiasis erkrankt waren und ebenfalls Titer
über 1:80 aufwiesen (Tab. 30).

2.3.3 Zusammenfassung der Gruppen/Zuordnung zueinander (graphische)/Zahlenangaben zu den Untersuchungen

Rückkehrer aus Endemiegebieten insgesamt	
monophas. Antikörper- bestimmung	Endemiegruppe
	Leberabszeßgruppe
	Ruhrgruppe
Cysten-/Minutaform Träger	
Träger apathogener Amöben	
Gruppe abgeheilter Abszesse	
Gruppe anderer Erkrankungen	

Kontrollgruppe

In der vorliegenden Arbeit wurden nach den
vorgenannten Auswahlkriterien (2.3)

1.264 Personen mit dem Latexagglutinationstest,

1.060 Personen mit dem IHAT und

1.194 Personen mit dem Immunfluoreszenztest
untersucht.

Die Angaben zu den Personen/Patientenzahlen
der einzelnen Gruppen finden sich in den
Tabellen.

2.4 Datenvergleich, Signifikanzberechnungen

Die Ergebnisse wurden mit statistischen Methoden unter-
sucht. Verwendung fand der exakte FISHER-Test für die
Vierfeldertafel, wegen unterschiedlich großer Fallzahlen,
die verglichen werden mußten (15). Als nicht exakt genug

erwies sich der sonst übliche χ^2 -Test, ebensowenig die Korrektur nach YATES (20).

Häufigkeitsunterschiede wurden bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ als statistisch signifikant bezeichnet, ein Signifikanzbereich von $0,01 \leq p < 0,05$ als statistisch auffällig.

2.5 Ergebnisse zur eigenen Untersuchung

2.5.1 Legende zu den Tabellen 1-8 / 12-19 / 21-28 / 31-32

Waagrecht: Unter den zugehörigen Säulen sind zunächst die ermittelten Titerbereiche (1:m) in von links nach rechts zunehmender Verdünnung vermerkt

(z.B. 80(= m) d.h. 1:80),

darunter wurde den Säulen die Patientenseren-Zahl (n) zugeordnet,

ferner die Patientenseren-Zahl in Prozent (n %), falls notwendig,

darunter teilweise die prozentuale Summe der Patientenseren-Zahl (Summe %) von mehreren Säulen über mehrere Titerbereiche, wie graphisch zugeordnet.

Für die Latex-Agglutinationsuntersuchung wurde nach dem gleichen Legendenprinzip verfahren, hier finden sich keine Titerbereiche, sondern Positiv/Negativ-Aussagen (2.2.3.3).

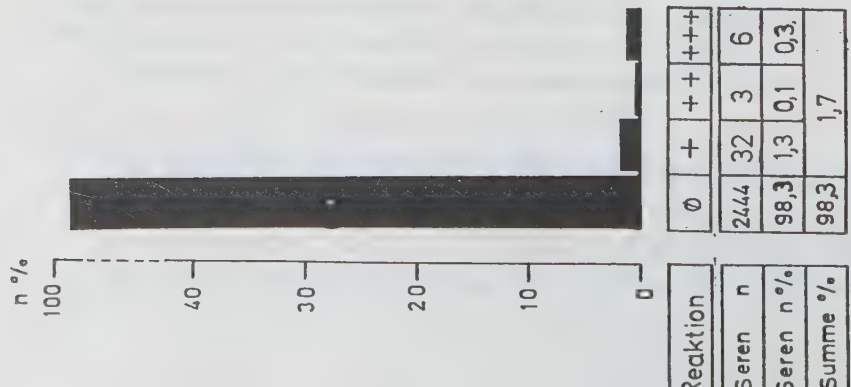
Senkrecht: In Zuordnung zur Höhe der Säulen wird hier die Zahl der Patienten (n), teilweise auch die Zahl der Patienten in Prozent (n %) angegeben.

2.5.2 Ergebnisse Latex-Agglutinationstest (Serameba, 2.1.1)

2.5.2.1 Tabellarische Ergebnisdarstellung Tabellen 1 - 8

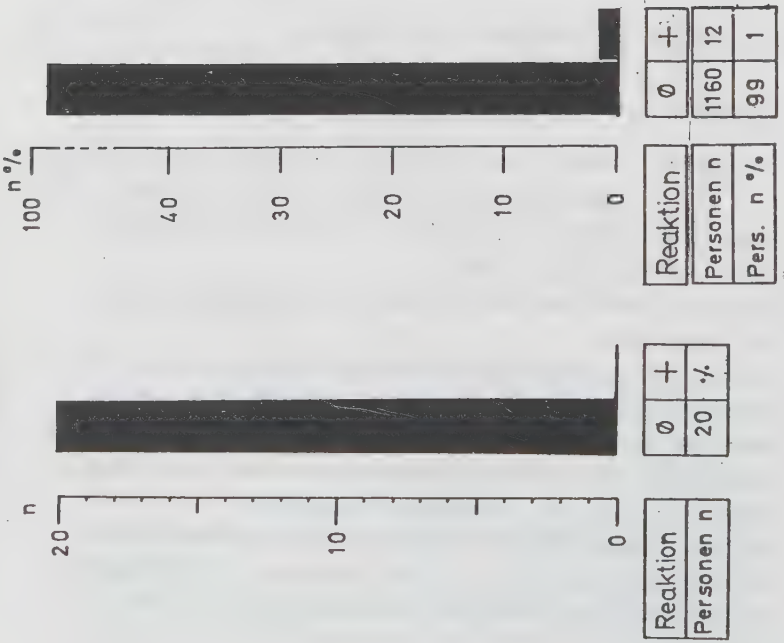
f.f.

LATEX AGGLUTINATIONS TEST



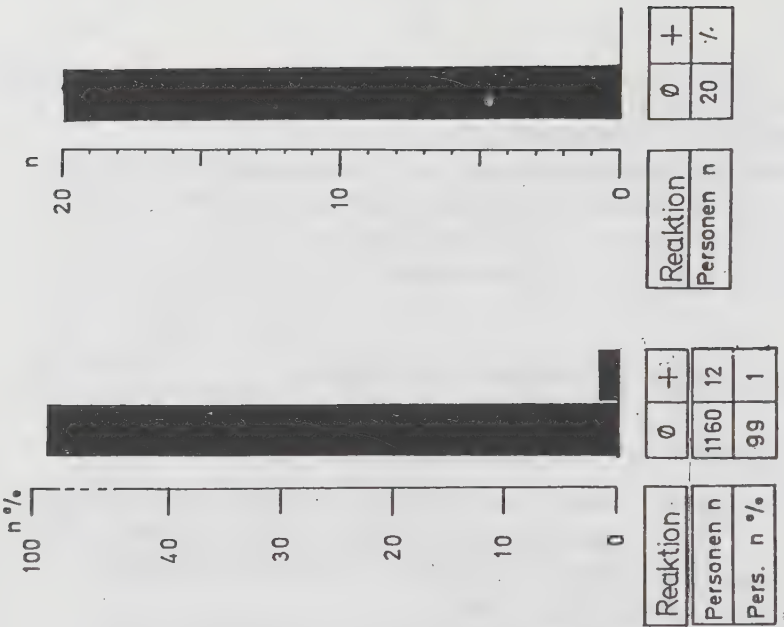
Tab. 1 (2.3.2.1)

HECKKEHRER INSGESAMT (2485 P)



Tab. 2 (2.3.2.2)

KONTROLLGRUPPE (20 P)

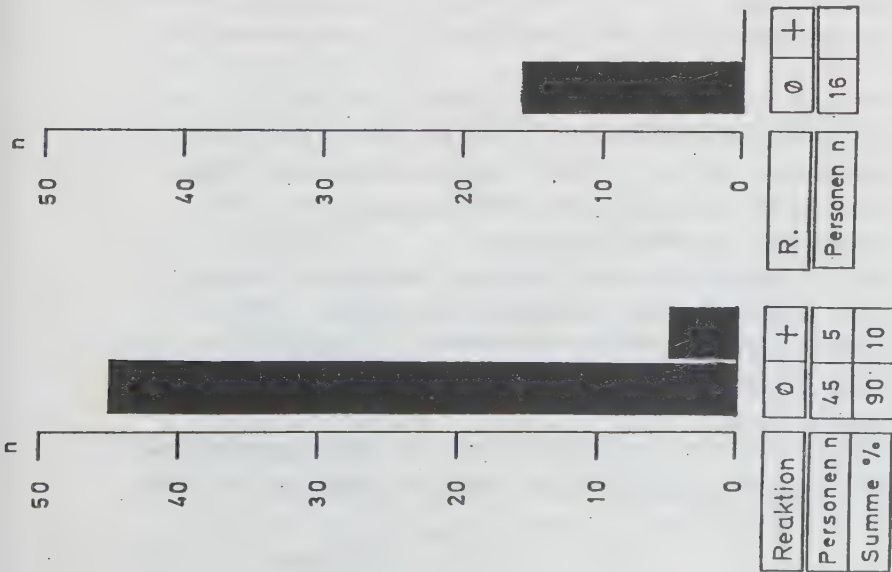


Tab. 3 (2.3.2.3)

ENDMIEGRUPPE (1172 P)

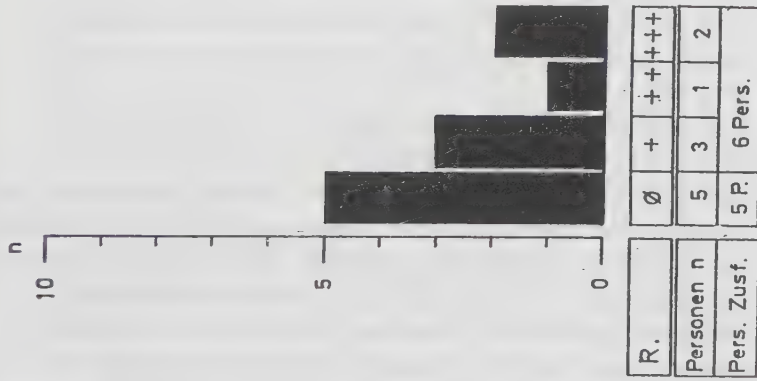
Tab. 4 (2.3.2.4)

APATHOG. AMÖBEN (20 P)



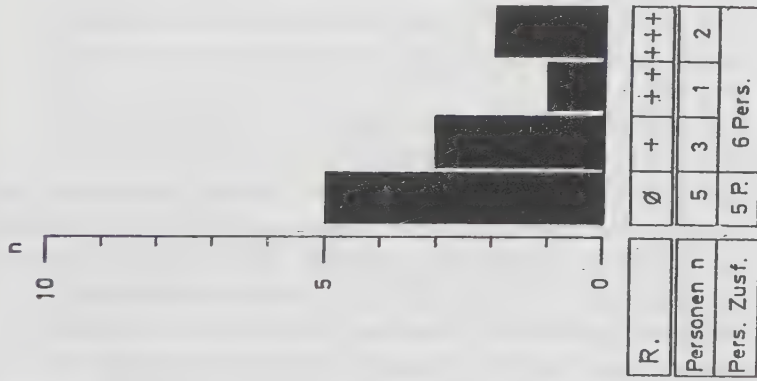
Tab. 5 (2.3.2.5)

AUSSCHIEDER OHNE
HESCHWERDEN (50 P)



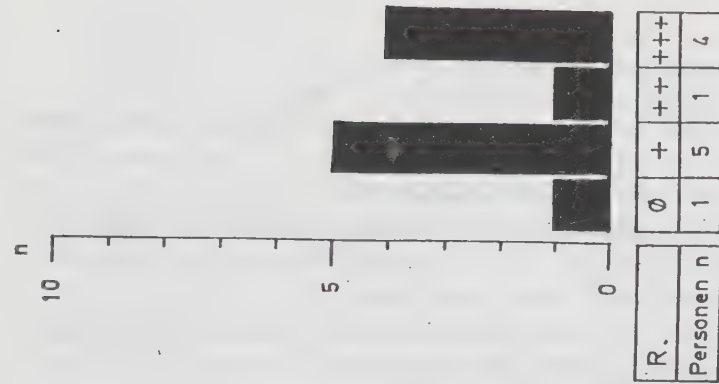
Tab. 6 (2.3.2.6)

AUSSCHIEDER MIT
DIARRHOEN (16 P)



Tab. 7 (2.3.2.7)

AMÖBENRUHRGRUPPE (11 PERS.)



Tab. 8 (2.3.2.8)

LEBERABZESSGRUPPE (11 PERS.)

2.5.2.2 Erläuterung zu Tabellen 1 - 8

Bei den Patientenserien der Gesamtheit der Rückkehrer (Tab.1) agglutinierte der Latex in 1,7 % unterschiedlich durchscheinend positiv (2.1.1.3).

Die Kontrollgruppe - gesunde Personen ohne Endemiegebietkontakt - (Tab.2) ergab in keinem Fall der Untersuchungen eine Agglutination, während die Seren der gesunden Tropenrückkehrer der Endemiegebietgruppe (Tab.3) in 1 % leicht durchscheinende positive Reaktionen aufwiesen.

Gesunde Rückkehrer mit nachgewiesenen apathogenen Amöben (Tab.4) reagierten in keinem Untersuchungsfall positiv.

Die Patienten der Cysten- und Minutaform Ausscheider (Tab.5 asymptomatische Amöbiasis 2.3.2.5 und Tab.6 symptomatische Amöbiasis 2.3.2.6) weisen in den weitaus meisten Untersuchungen ein negatives Untersuchungsergebnis auf, nur in 10 % der Personen ohne Beschwerden reagiert der Latextest leicht positiv durchscheinend. Auf eine sorgfältige Trennung dieser Untergruppen ohne Beschwerden / mit Diarrhoen zu Ruhrpatienten durch procto- oder rektoskopische Schleimuntersuchung in den notwendigen Fällen wurde an anderer Stelle hingewiesen (2.3.1).

Deutlich positive Reaktionen finden sich bei den invasiven Verlaufsformen (Tab.7 und 8): der eigentlichen Zielgruppe der vorliegenden Untersuchungen mit signifikant häufiger positivem AK-Nachweis als bei der Gruppe der gesunden Rückkehrer.

Bei Patienten mit einer invasiven Amöbiasis (Leberabszeßgruppe 2.3.2.8 und Amöbenruhrgruppe 2.3.2.7) ergeben sich von den hier erfaßten 22 Patienten bei 6 (27 %) negative, bei 16 positive (Summe pos.) Reaktionen.

Dabei liegt die Trefferquote bei der Leberabszeßgruppe mit 1 negativ zu 10 positiv deutlich günstiger als bei

Ruhrpatienten mit 5 negativ zu 6 positiv.

Zweifach (++) und dreifach (+++) positive Reaktionen kamen ausschließlich bei den invasiven Verlaufsformen vor.

2.5.2.3 Diagnostische Aussage und Zusammenfassung
eine Differenzierte diagnostische Aussage erlaubt folgende Zusammenstellung:

Tabelle 9:

Latextest	negat.	+	++	+++	Summe positiv
Leberabszeßgruppe	1	5	1	4	10
Amöbenruhrgruppe	5	3	1	2	6
Summe invasive Amöbiasis, Bezug zur Gesamtzahl	6 von 1228	8 von 27	2 von 3	6 von 6	16 von 36
asymptomatische Amöbiasis	16				
symptomatische Amöbiasis	45	5			5
Endemiegruppe	1160	12			12
abgeheilte ^(Tab.10) Leberabszesse	1	2	1		3
Summe ohne inv. Verlauf, Bezug zur Gesamtzahl	1222v. 1228	19 von 27	1 von 3		20 von 36
Gesamtzahl	1228	27	3	6	36
^(Tab.11) Mitreaktionen		4			

Die folgenden Angaben zur diagnostischen Aussage des Latextestes beziehen sich auf Auswahl und Verhältnis der von uns untersuchten Personen- und Patientengruppen. Von allen hier untersuchten 1.264 Personen reagierten 2,85 % der Untersuchungen positiv (36 von 1.264).

Dabei waren die meisten (16 von 1.264), also 1,27 % an einer invasiven Amöbiasis erkrankt, 0,39 % Patienten waren Cysten- und Minutaformausscheider,

0,95 % wurden der Endemiegruppe zugeordnet,

0,24 % hatten einmal eine invasive Amöbiasis in den letzten Jahren durchgemacht (Tab.10).

Betrachtet man die negativen Ergebnisse, so fällt auf, daß 6 von 1.228, also 0,49 % der Patienten an einer invasiven Amöbiasis erkrankt waren, ohne daß auch nach mehrfacher Kontrolle eine positive Reaktion im Latextest nachgewiesen wurde.

Bei den einfach positiven (+) Reaktionen waren 8 von 27, also 30 % der an einer invasiven Amöbiasis erkrankten Patienten erfaßt.

Vier Patienten wurden ausgesondert, sie wiesen unspezifische Spontanagglutinationen auf ("Mitreaktionen") und zwar als einfach positive Reaktionen (siehe Tab.11).

Mehrfach positive Reaktionen (++ und +++) kamen, wie erwähnt, nur bei der akuten invasiven Amöbiasis vor:

Die eine Hälfte kam hier als einfach positive (+) und die andere Hälfte als mehrfach positive Reaktionen vor (8 + zu 8 ++, +++). Ein Patient hierbei war nunmehr gesund, war aber vor einem Jahr erstmals wegen eines Amöbenleberabszesses behandelt worden, jetzt war also noch eine deutliche Antigen-Antikörper-Reaktion nachweisbar (Persistenz 1.2.2).

Betrachtet man alle positiven Ergebnisse zusammen, so ergeben sich 16 von 36, also 44 %, an invasiver Amöbiasis erkrankter Patienten, was auch heißt, daß 56 % der positiven Reaktionen bei Personen auftraten, die nicht nachweisbar an einer Amöbiasis erkrankt waren.

Vier Patienten mit abgeheilten Leberabszessen wurden bei uns nachuntersucht und sind hier zusätzlich erfaßt. Dabei werden an dieser Stelle auch die Ergebnisse anderer serologischer Untersuchungen mitgenannt:

Tabelle 10:

Latextest	IHAT	IFAT	
++	1: 64	1:80	Abszeß vor 1 Jahr behandelt
+	1:128	1:40	Abszeß vor 2 1/2 Jahren behandelt
+	1: 32	1:40	Abszeß vor 2 Jahren behandelt
negativ	1: 64	1:40	Abszeß vor 1 Jahr behandelt

Es ließ sich kein Leberabszeß mehr nachweisen (sonographisch/CT).

Bei vier Patienten mit einer einfach positiven Latex-Agglutination bestand anamnestisch, klinisch und nach weiteren Befunden kein Hinweis auf eine Amöbiasis. (Tab.9 "Mitreaktion"). Bei diesen Patienten wurden allerdings andere Erkrankungen gefunden. Die folgende Tabelle berücksichtigt sieben Patienten, da auch in einem anderen Agglutinationsverfahren (IHAT) solche Spontanagglutinationen beobachtet wurden (2.3.3.3), die dort besprochen werden.

Tabelle 11:

Latextest	IHAT	IFAT	Erkrankung
+	Ø	Ø	Malaria tropica
+	1:64	Ø	Malaria tropica
+	1:64	Ø	Malaria tropica
+	Ø	Ø	Hepatitis a nachgewiesen
neg.	1:128	Ø	Mononucleosis infectiosa
neg.	1:256	Ø	Mononucleosis infectiosa
neg.	1:2048	1:20	Osteomyelosklerose

Zusammenfassung

Zur Spezifität:

- a) Bei vier Patienten (0,31 % unserer Untersuchungen) (Tab.9) lag eine unspezifische Spontanagglutination bei einer anderen Erkrankung vor (1.2.2).

Zur Empfindlichkeit:

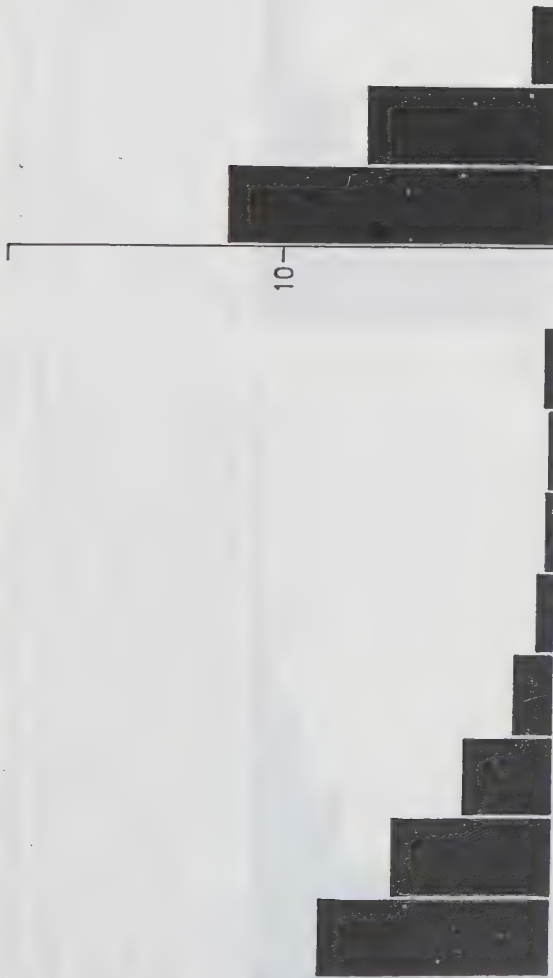
- b) 1 % der gesunden Rückkehrer ("Endemigruppe" 2.3.2.3) haben bei diesem Latex-Agglutinationstest einen positiven Befund.
- c) Bei 6 von 22 Patienten mit akuter invasiver Amöbiasis agglutinierten die Seren nicht (27 %) (Ruhr, Abszeß).
Bei den Leberabszeßpatienten reagierte ein Patientenserum negativ.
- d) Apathogene Amöben haben auf dieses Untersuchungsverfahren keinen Einfluß.
- e) Die diagnostische Aussage zur invasiven Amöbiasis ließ sich bei mehrfach positiven (++, +++) Reaktionen eindeutig, bei einfach positiver Reaktion (+) nur mit Wahrscheinlichkeit der Erkrankung stellen, wobei auf die Subjektivität des Ablesers hingewiesen werden muß (2.1.1.3).

2.5.3 Ergebnisse indirekter Hämagglutinationstest (IHAT)

2.5.3.1 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse Tab. 12 - 19

n% Rückkehrer insgesamt (2089 Pers.) n=20 Kontrollgruppe (20 Personen)

100
50



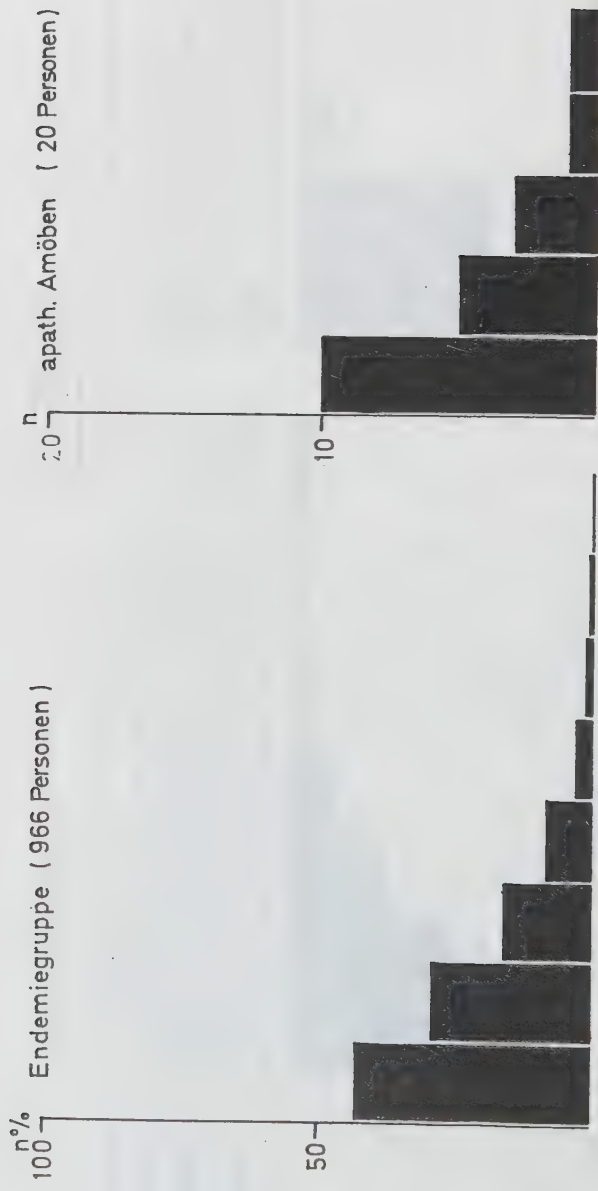
Titer	8	16	32	64	128	256	≥512
Ø	604	331	150	57	25	14	26
Seren n	28,8	15,8	7,2	2,7	1,2	0,8	1,3
Seren n%	86,7						
Summe	13,3						

TAB. 12 (2.3.2.1)

Titer	8	16	32	64	128	≥256
Ø	7	1	Ø	Ø	Ø	Ø
(60%)	(35%)	(5%)				

TAB. 13 (2.3.2.2)

IHAT



Titer 1:	8	16	32	64	128	256	≥512
Pers. n	281	152	81	22	9	3	0
Pers. n %	29,1	15,8	8,4	2,2	0,9	0,3	0
Summe %	88,2						1,2

TAB. 14 (2.3.2.3)

Ø	8	16	32	64	128	256	≥512
10	5	3	1	1	0	0	0
(50)	(25)	(15)	(5)	(5)			
	(90)						(10)

TAB. 15 (2.3.2.4)

IHAT

n%
100
50

E.histolytica-Ausscheider (50 Personen)
z.Zt.keine Diarrhoe (nurCysten u.Minutaformen)

n
16
8

E.histolytica-Ausscheider (16 Personen)
z.Zt. Diarrhoe (keine Magnaformen)

Titer 1:	Ø	8	16	32	64	128	256	≥512
Pers. n	15	12	7	6	5	5	0	0
Pers. n%	30	24	14	12	10	10	0	0
Summe%	68						32	

TAB. 16 (2.3.2.5)

IHAT

Ø	8	16	32	64	128	256	≥512
9	4	2	1				
	(96)						(4)

TAB. 17 (2.3.2.6)

Amöbenruhr (11 Fälle)



Titer 1:

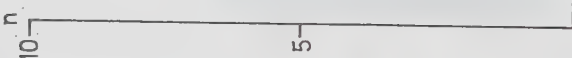
Pers. n

Ø	8	16	32	64	128	256	≥ 512
	1		1	1	2	2	4

TAB. 18 (2.3.2.7)

IHAT

Leberabscess (13 Fälle)



Ø 8 16 32 64 128 256 ≥ 512

1 1 1 2 2 4

TAB. 19 (2.3.2.8)

2.5.3.2 Erläuterungen zu den Tabellen 12 - 19

(Legende unter 2.4.1)

Die Tabelle zur Kontrollgruppe (Tab.13) weist keine höheren Titer, d.h. Antigen-Antikörperreaktionen in höheren Verdünnungsstufen als 1:16 auf. Es handelt sich um gesunde Patienten ohne Endemiegebietkontakt (2.3.2.2).

Bei der Gesamtheit der Tropenrückkehrer (Tab.12, 2.3.2.1) liegen 13,3 % der untersuchten Seren im Titerbereich 1:32 und in höheren Verdünnungsstufen.

Die folgenden Tabellen zeigen Aufschlüsselungen nach klinischen Kriterien. Tab.14 "Endemiegruppe" (2.3.2.3) veranschaulicht, daß 11,8 % höhere Titerbereiche von 1:32 und mehr (d.h. Reaktionen in höheren Verdünnungsreihen) aufweisen. Ferner fanden sich in 1,2 % der Untersuchungen Titerhöhen, wie sie auch bei der gewebeinvasiven Amöbiasis gefunden werden (ff).

Apathogene Amöben (2.3.2.4) haben keinen Einfluß auf dieses serologische Verfahren (statistisch unauffällig).

Ausscheider von Cysten und Minutaformen (Tab.16 und 17, 2.3.2.5, 2.3.2.6) mit und ohne Beschwerden haben ebenfalls keine wesentlich häufigeren und höheren Titer (statistisch unauffällig).

Deutlich erhöhte Titer finden sich bei der Amöbenruhrgruppe (Tab.18, 2.3.2.7) und Leberabszeßgruppe (Tab.19, 2.3.2.8), den invasiven Verlaufsformen der Amöbiasis (Signifikanz $p < 0,01$).

Der IHAT zeigt bei Patienten mit Leberabszesserkrankungen im Vergleich zu Ruhrpatienten deutlich höhere Titer an.

Der höchste amöbenspezifische Titer lag bei 1:2048. Ein Titer fand sich bei Ruhrpatienten im niedrigen Bereich von 1:8. Bei der Leberabszeßpatientengruppe lag die Agglutination der niedrigsten Verdünnungsstufe bei 1:64, auch Kontrollen ergaben keinen anderen Wert:

Vier Wochen später lag der Titer im gleichen Bereich, nach zwei Monaten war kein IHAT-Titer mehr nachweisbar (Latextest dreimal negativ, IFAT konstant 1:160). Diese Patientin bereiste für wenige Wochen zwei Monate vor der Untersuchung Srilanka und bekam noch während des dortigen Aufenthaltes heftigste Diarrhoen. Die Stuhluntersuchung blieb auch in den rectoskopisch entnommenen Schleimflocken dreimal ohne Nachweis von Formen der *Entamoeba histolytica*.

Klinisch bestanden dysenterische, blutige Durchfälle und deutlicher Leberkapselspannungsschmerz. Es waren eindeutige Entzündungszeichen nachweisbar, die Transaminasen waren mäßig erhöht.

Sonographisch konnten mehrere bis 9 cm große cystische Strukturen im re und li Leberlappen nachgewiesen werden.

Unter Therapie (Clont-Emetin-Resochin-Schema) trat deutliche Besserung auch unter sonographischer Kontrolle ein.

Nach unseren Untersuchungen von 13 Leberabszeßpatienten soll zu Klinik und Labor noch erwähnt sein:

- alle Patienten kamen aus Endemiegebieten
- ein Patient hatte keinerlei Beschwerden
- acht Patienten hatten deutlichen Leberdruck/
Spannungsschmerz
- sieben Patienten gaben an, jetzt oder früher blutige Stühle beobachtet zu haben
- drei Patienten gaben uncharakteristische gastro-intestinale Beschwerden an
- bei lediglich e i n e m Patienten konnten noch Cysten von *Entamoeba histolytica* nachgewiesen werden
- bei sechs Patienten waren die Transaminasen mäßig, in keinem Fall stark erhöht
- immer fanden sich z.T. deutliche Entzündungszeichen (Blutsenkungsgeschwindigkeit, Differenzialblutbild/Leukocyten, Elektrophorese)

- einmal lag der ges. Bilirubinwert bei 2 mg
- die quantitativen Immunglobuline Ig, G, A, M lagen im Normbereich, Ig E bei 5 von 9 Patienten deutlich erhöht.

2.5.3.3 Diagnostische Aussage und Zusammenfassung

Eine differenziertere Aussage zur Häufigkeit der serologischen Ergebnisse in Zuordnung zu den untersuchten Patienten/Personen ermöglicht die folgende Tabelle 20.

Tabelle 20:

IHAT-Titer 1:m	32 u.m.	64 u.m.	128 u.m.	256 u.m.	512 u.m.	1024 u.m.	2048 u.m.
Leberabszesse	13	13	12	12	9	7	1
Amöbenruhr	10	9	8	6	4	2	
Summe invasiver Erkrankungen u. % zur Gesamtzahl	23 14	22 32	20 53	18 86	13	9	1
Symptom.Amöbiasis	1						
Asymptom.Amöb.	16	10	5				
Endemiegebiet Aufenthalte	115	34	12	3			
abgeheilte Leberabszesse	4	3	1				
Summe ohne invas. Verlaufsformen u. % zur Gesamtzahl	136 86	47 68	18 47	3 14			
Gesamtzahl	159	69	38	21	13	9	1
Mitreaktionen	5	5	3	2	1	1	1

Erläuterung:

In der linken Spalte sind von oben nach unten die untersuchten Patienten/Personengruppen aufgelistet. Dabei sind Leberabszeß- und Amöbenruhrerkrankungen zusätzlich in "Summe invasiver Erkrankungen" zusammengefaßt und diese Summe der Gesamtzahl (in %) der hier untersuchten Patienten zugeordnet.

Die nicht invasiven Verlaufsformen symptomatischer und asymptomatischer Amöbiasis (Cysten- und Minutiformausscheider) wurden mit Patienten von Durchseuchungstitern zur Summe ohne invasive Verlaufsform zusammengefaßt und der Gesamtzahl in % zugeordnet.

In der oberen waagrechten Reihe werden die zusammengefaßten Titerbereiche 1:m (m = Titerhöhe) u.m. (und mehr) bezeichnet.

Das bedeutet: Bei 32 u.m. sind alle Patienten - z.B. bei Amöbenruhr 10 - erfaßt, welche bei einem Titer 1:32 und in den höheren Verdünnungsstufen - hier Amöbenruhr bis 1:1024 - Agglutinationen in den Untersuchungen aufwiesen.

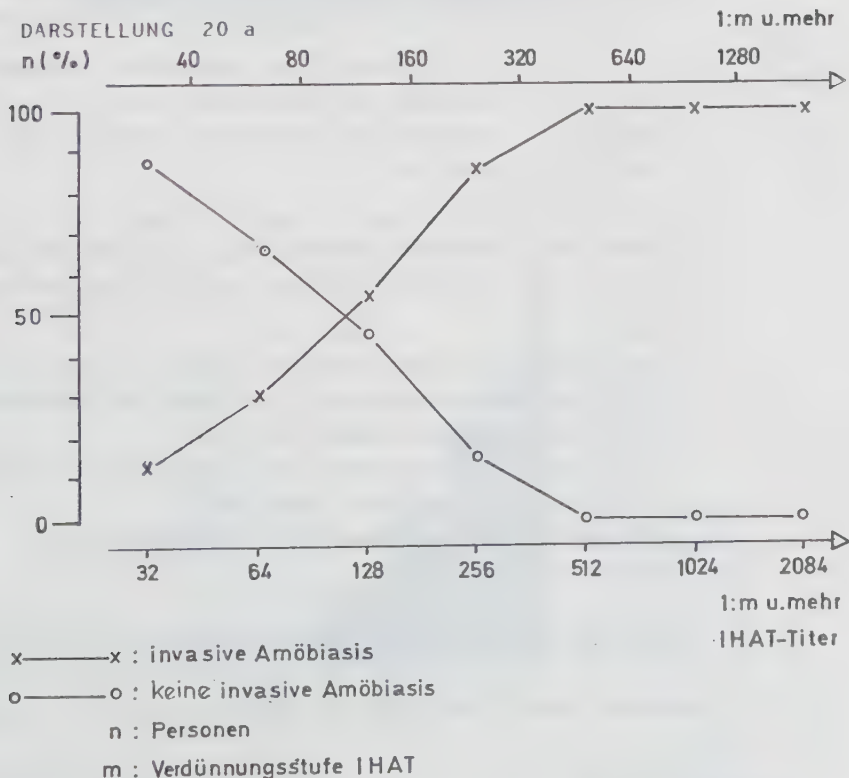
Bei 64 u.m. sind lediglich noch alle Patienten einer Gruppe erfaßt, die mindestens den Titer 1:64 aufwiesen sowie alle anderen Patienten mit höheren Titern, usw.

Bei fünf Patienten kam es zu unspezifisch hohen Titern, bei denen anamnestisch, klinisch und nach anderen Befunden eine Amöbiasis sicher ausgeschlossen werden konnte, jedoch eine andere Erkrankung vorlag. Dabei waren die in gleicher Weise (wie beschrieben 2.1.2.2) stabilisierten Erythrocyten ohne Antigenbehandlung bereits agglutiniert. Hohe Titer in nicht eindeutigen Fällen wurden mit Antigen-freien, stabilisierten Erythrocyten überprüft und gegebenenfalls ausgesondert: So hier unter "Mitreaktionen", die Auflistung erfolgte bereits in Tab.11 unter 2.5.2.3 .

Die folgenden Angaben zur diagnostischen Aussage des INAT beziehen sich auf die Auswahl und das Verhältnis der in Tab.20 genannten Gruppen.

Es folgt, daß für einen Titerbereich von
 1:512 alle invasiv Erkrankten, bei
 1:256 86 % der invasiven Amöbiasis, bei
 1:128 53 % der invasiven Amöbiasis erfaßt sind,
 aber auch, daß
 47 % keine invasive Amöbiasis haben. Bei
 1:32 ist eine Invasivität mit 14 % relativ un-
 wahrscheinlich.

Die Betrachtung der prozentualen Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung an invasiver Amöbiasis (entsprechend Tab.20) ermöglicht die folgende Darstellung 20a. Sie veranschaulicht das serologische Verhalten in Zuordnung zu den untersuchten Patienten/Personenzahlen (%). Zusätzlich wurde zu der geometrischen Verdünnungsreihe 1:8 , 1:16 etc. eine zweite häufig verwendete Verdünnungsreihe (1:10 , 1:20) graphisch zugeordnet.



Wie auch hier ersichtlich, ist z.B. bei einem Titerbereich 1:64 eine akute invasive Verlaufsform zu 31 % wahrscheinlich.

Zusammenfassung

Zur Spezifität:

- a) Bei fünf Patienten (0,47 % aller IHAT-Untersuchungen) agglutinierte der IHAT ohne Antigenbeladung spontan auf Grund bestimmter Serumeigenschaften oder als Kreuzreaktionen, wobei andere Erkrankungen festgestellt wurden (Tab.11) (1.2.2).
Antigen-unbeschichtete, stabilisierte Erythrocyten sollten zum Ausschluß bzw. Erkennen von Spontan-agglutinationen im käuflichen Kitt vorgesehen sein (2.1.2).

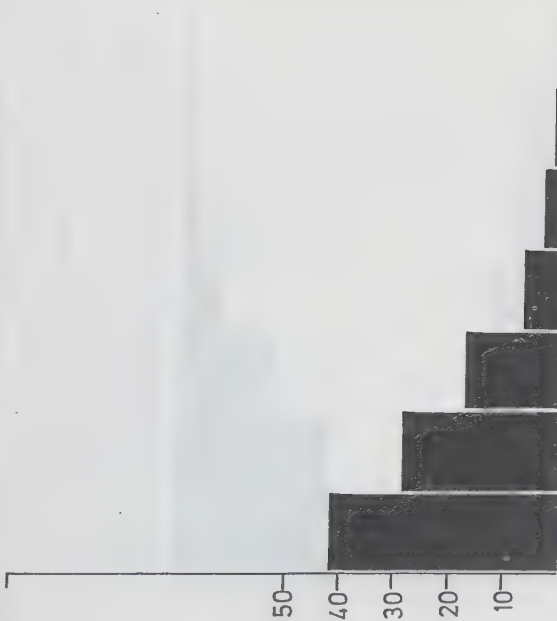
Zur Empfindlichkeit:

- b) Im IHAT haben 1,2 % der gesunden Rückkehrer (Tab.14 "Endemiegruppe") mit einer Titerstufe von 1:128 und mehr einen für eine invasive Amöbiasis hochverdächtigen Titer, 11,8 % zeigten Titer von 1:32 und höher.
- c) Bei Patienten mit einer akuten invasiven Amöbiasis lag der Titerbereich in drei Fällen bei 1:64 und niedriger, in einem Fall einer akuten Amöbenruhr betrug der Titer 1:8.
- d) Apathogene Amöben haben keinen, Cysten- und Minutiformen von *Entamoeba histolytica* nur einen unwesentlichen Einfluß auf dieses serologische Verfahren.
- e) Die diagnostische Aussage zur invasiven Amöbiasis wird umso wahrscheinlicher, je höher die Verdünnungsstufe liegt (Darstellung 18a).
Leberabszeßpatienten haben deutlich höhere Titerbereiche als Ruhrpatienten (Tab.18).
Ein Festlegen von Grenztitern erscheint nicht geeignet.

2.5.4 Ergebnisse im indirekten Immunfluoreszenztest (IFAT)

2.5.4.1 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse Tab. 21 - 28

n% Rückkehrer insgesamt (2128)



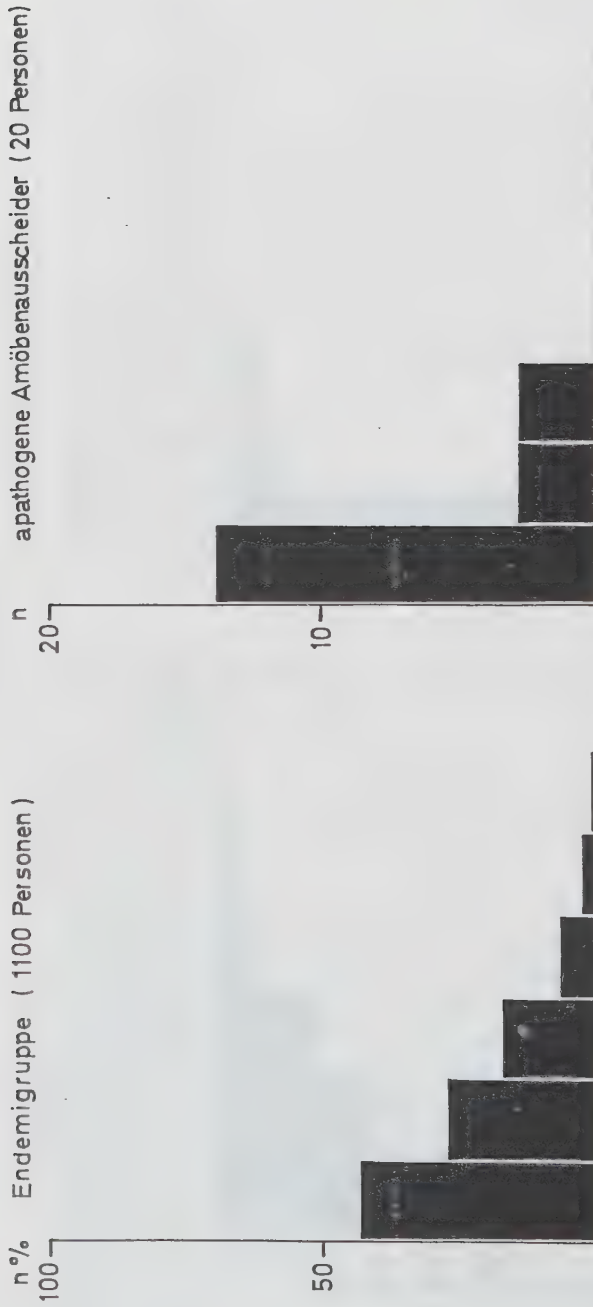
TAB. 21 (2.3.2.1)

IFT (IFAT)

n = 20 Kontrollgruppe (20 Personen)



TAB. 22 (2.3.2.2)



TAB. 23 (2.3.2.3)

IIFT (IFAT)

TAB. 24 (2.3.2.4)

E.histolytica-Ausscheider (50 Personen)
z.Zt. keine Diarrhoe (nur Cysten u. Minutaformen) n

E.histolytica-Ausscheider (16 Personen)
z.Zt. Diarrhoe (keine Magnaformen) n



Titer	Ø	10	20	40	80	160	≥ 320
Seren n	16	13	7	6	4	4	
n %	32	26	14	12	8	8	
Summe %	72 %						

	Ø	10	20	40	80	160	≥ 320
	5	3	3	3	1	1	
	(68,7 %)						(31,3 %)

TAB. 25 (2.3.2.5)

II FT (IFAT)

Tab. 26 (2.3.2.6)

Amöbenruhrgruppe (11 Personen)



Titer	Ø	10	20	40	80	160	≥320
Seren n			1	1	3	6	0

TAB. 27 (2.3.2.7)

IIIFT (IFAT)

Leberabscessgruppe (13 Personen)



Ø	10	20	40	80	160	320	≥640
0	0	0	0	2	6	2	3

TAB. 28 (2.3.2.8)

2.5.4.2 Erläuterung zu Tab. 21 - 28

(Legende unter 2.5.1)

In der Kontrollgruppe (Tab.22), also bei gesunden Personen ohne Endemiegebietkontakt fanden sich keine Serumtitern von mehr als 1:20.

Bei der Gesamtheit der Rückkehrer liegen 12,1 % der untersuchten Seren in Titerbereichen von 1:40 und mehr (Tab.21).

In der Aufschlüsselung nach klinischen Kriterien weisen in Tab.23 ("Endemiegruppe" 2.3.2.3) 10,5 % der Untersuchungen Titerbereiche von 1:40 und mehr auf. Apathogene Amöben haben keinen Einfluß auf dieses serologische Verfahren, in keinem Fall kamen Titerbereiche von 1:40 oder mehr vor (Tab.24, 2.3.2.3). Cysten- und Minutaformausscheider zeigen durchschnittlich keine auffällig höheren Serumtitern als die gesunden, parasitenfreien Rückkehrer (Tab.25, 2.3.2.5 und Tab.26, 2.3.2.6). Die Untergruppen mit/ohne Beschwerden verhalten sich serologisch nahezu gleich (statistisch unauffällig).

Deutlich erhöhte Titerstufen finden sich bei der invasiven Amöbiasis (Amöbenruhrgruppe Tab.27, 2.3.2.7 und Laberabszeßgruppe Tab.26, 2.3.2.8) (Signifikanz $p < 0,01$).

Zehn von elf Ruhrpatienten hatten Titer über 1:40, der niedrigste lag hier bei 1:20.

Bei Abszeßpatienten wiesen alle Untersuchungen einen Titer von 1:80 und mehr auf, der höchste Titer lag bei 1:5120 (Tab.28).

2.5.4.3 Diagnostische Aussage und Zusammenfassung

Eine differenziertere Aussage zur Häufigkeit der serologischen Ergebnisse in Zuordnung zu den untersuchten Patienten/Personen ermöglicht die folgende Tabelle 29 (Legende unter 2.5.3.3).

Tabelle 29:

IFAT-Titer 1:m	40 u.m.	80 u.m.	160 u.m.	320 u.m.	640 u.m.
Leberabszesse	13	13	11	6	3
Amöbenruhr	10	9	6		
Summe invasiver Erkrankungen u. % zur Gesamtzahl	23 14	22 34	17 63	6	3
Symptom. Amöbiasis	5	2	1		
Asymptom. Amöbiasis	14	8	4		
Endemiegebiet Aufenthalte	115	32	5		
abgeheilte Leberabszesse	4	1			
Summe ohne invas. Verlaufsformen u. % zur Gesamtzahl	133 86	43 66	10 37		
Gesamtzahl	161	65	27	6	3

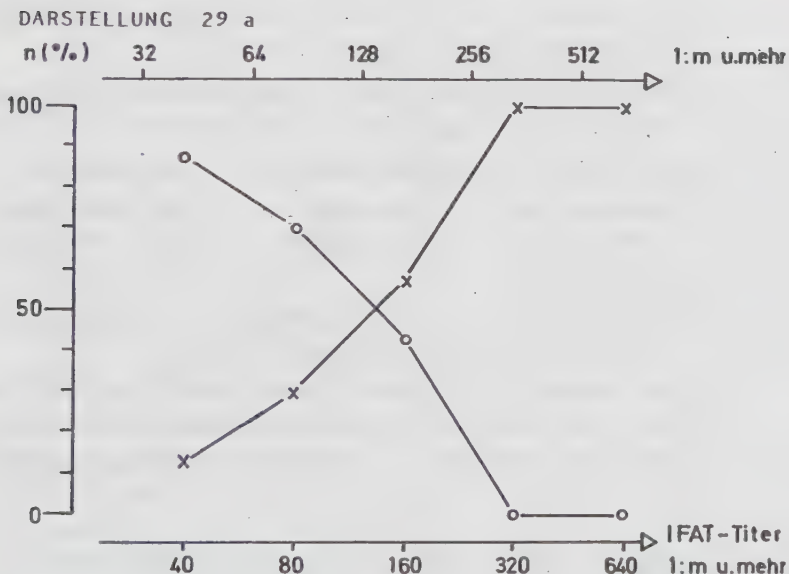
Hieraus folgt, daß es sich bei einem Titerbereich von 1:320 nur um akute invasive Amöbiasis handelt, bei 1:160 um 63 % der akuten Amöbiasis, bei 1:80 um 34 % der akuten Amöbiasis, aber auch, daß 66 % keine invasive Amöbiasis haben.

Bei dem Serومتiter von 1:40 war eine Invasivität mit 14 % relativ unwahrscheinlich.

(Bei einem Ruhrpatienten war auch nach mehrfacher Kontrolle kein höherer Titer als 1:20 zu beobachten (Tab.27)).

Die Betrachtung der prozentualen Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung an invasiver Amöbiasis (entsprechend Tab.29) ermöglicht Darstellung 29a. Sie veranschaulicht das serologische Verhalten in Zuordnung zu den untersuchten Patienten/Personengruppen (%).

Auch hier wurde zusätzlich zu der geometrischen Verdünnungsreihe 1:10 , 1:20 etc. eine zweite häufig verwendete Verdünnungsreihe 1:8 , 1:16 etc. graphisch zugeordnet.



x — x : invasive Amöbiasis
 o — o : keine invasive Amöbiasis

n : Personen

m : Verdünnungsstufe IFAT

z.B.: Bei einer Titerstufe von 1:160 ist eine Erkrankung an einer invasiven Amöbiasis zu 63 % wahrscheinlich, aber auch: Bei 37 % besteht keine akute invasive Form.

Zusammenfassung

Zur Spezifität:

- a) Es besteht kein Hinweis von unspezifischen Titern von 1:40 und höher beim IFAT.

Zur Empfindlichkeit:

- b) 10,5 % klinisch völlig gesunder Rückkehrer zeigten einen Titer von 1:40 und höher,
3 % weisen mit 1:80 und mehr einen auf eine invasive Amöbiasis verdächtigen Titer auf.
- c) Zwei Patienten mit einer akuten invasiven Amöbiasis (Amöbenruhr) zeigten keinen höheren Titer als 1:40.
- d) Apathogene Amöben beeinflussen den Immunfluoreszenztest nicht, Ausscheider von Cysten und Minutiformen zeigten kaum vermehrte und höhere serologische Titer.
- e) Amöbenruhrfälle zeigten größtenteils, Leberabszesse zeigten alle, Titer von 1:80 und mehr.
Ein Grenztiter läßt sich nicht konkret angeben, es ist richtiger, von Wahrscheinlichkeit einer akuten invasiven Amöbiasis zu sprechen (Darstellung 29a).

2.5.5 Ergebnisse Titerkombination Latextest/IHAT/IFAT

Die Tabelle 30 zeigt die Häufigkeit einer Erkrankung an invasiver Amöbiasis und einer nicht invasiven Verlaufsform, wenn die Titerbereiche verschiedener Untersuchungsverfahren kombiniert werden.

Hierbei wurden (waagrechte Reihe oben) einmal die Testverfahren IFAT/IHAT kombiniert.

So bedeutet IFAT 1:40 und mehr bei einem IHAT 1:32 und mehr (40/32), daß alle Patienten erfaßt wurden, die g l e i c h z e i t i g im IFAT mindestens 1:40 und im IHAT mindestens 1:32 aufwiesen.

Zum anderen wurden zu dieser Kombination noch die positiven Ergebnisse im Latextest zugeordnet, also alle Patienten erfaßt, die z.B. sowohl im IFAT 1:160 und mehr, als auch im IHAT 1:128 und mehr, und auch im Latextest eine positive (ohne Unterteilung in ein-, zwei- oder dreifach) Reaktion aufwiesen.

Tabelle 30:

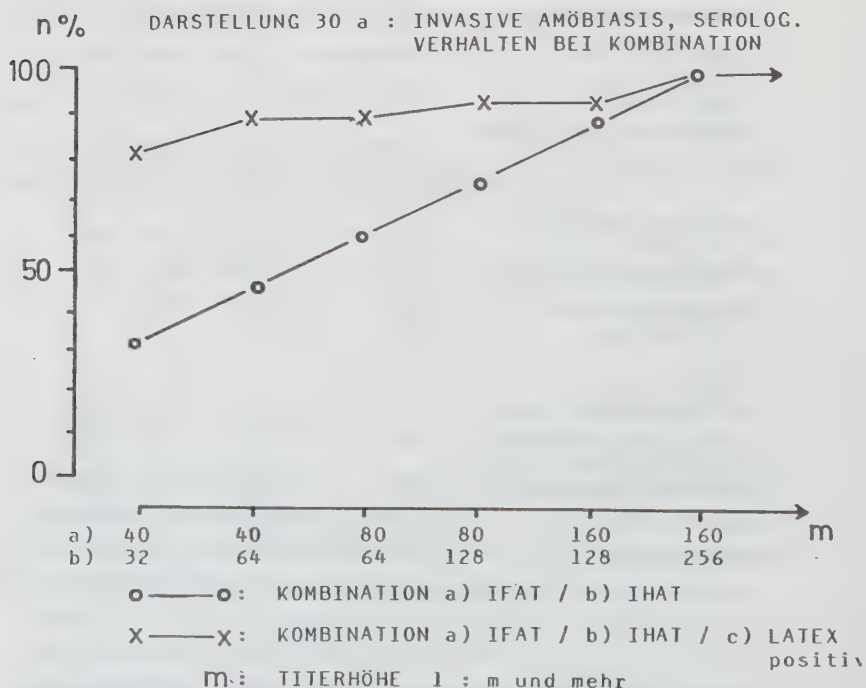
Titerkombination: a) IFAT 1:m u.m. b) IHAT 1:m u.m. c) Latextest positiv	40 ^a 32 ^{+b} c	40 ^a 64 ^{+b} c	80 ^a 64 ^{+b} c	80 ^a 128 ^{+b} c	160 ^a 128 ^{+b} c	160 ^a 256 ^{+b} c
Leberabszesse	13 11	13 11	13 11	12 10	10 9	10 9
Amöbenruhr	10 6	10 6	8 6	7 5	5 5	3 3
Summe invasiver Erkrankungen und Bezug zur Gesamtzahl %	23 17 32%81	23 17 46 89	21 17 58 89	19 15 70 93	15 14 88 93	13 12 100
Symptom. Amöbiasis	1					
Asymptom. Amöbiasis	8 1	7 1	6 1	3 1	1 1	
Endemiegebiet Aufenthalte	38	19	8	5	1	
abgeheilte Leberabszesse	4 3	1 1	1 1			
Summe ohne invasive Verlaufsformen u. Bezug zur Gesamtzahl %	51 4 68 19	27 2 54 11	15 2 42 11	8 1 30 7	2 1 12 7	
Gesamtzahl	74 21	50 19	36 19	27 16	17 15	13 12

In der folgenden Darstellung 30a werden die Ergebnisse der prozentualen Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung an einer invasiven Amöbiasis graphisch veranschaulicht. Es zeigt sich zum Beispiel, daß eine akute invasive Amöbiasis bei Patienten mit Serumtiter von mindestens

1:80 IFAT und gleichzeitig mindestens 1:128 IHAT zu 70 % wahrscheinlich ist.

Im IFAT 1:80 als alleinigem Test betrug die Wahrscheinlichkeit 34 % (Tab.29a, 2.5.4.3), im IHAT als alleinigem Test 54 % (Tab.20a, 2.5.3.3).

Die Darstellung 30a zeigt bei den gewählten Titerkombinationen einen nahezu linearen Verlauf, bei einer Kombination IFAT 1:160 und IHAT 1:256 waren nur noch invasive Verlaufsformen erfaßt.



Die Kombination von den vorliegenden drei Verfahren erhöht die diagnostische Aussage zur akuten invasiven Amöbiasis erheblich.

So zeigt sich zum Beispiel für IFAT 1:80 / IHAT 1:128 und Latextest positiv, daß eine Erkrankung an invasiver Amöbiasis zu 93 % wahrscheinlich ist.

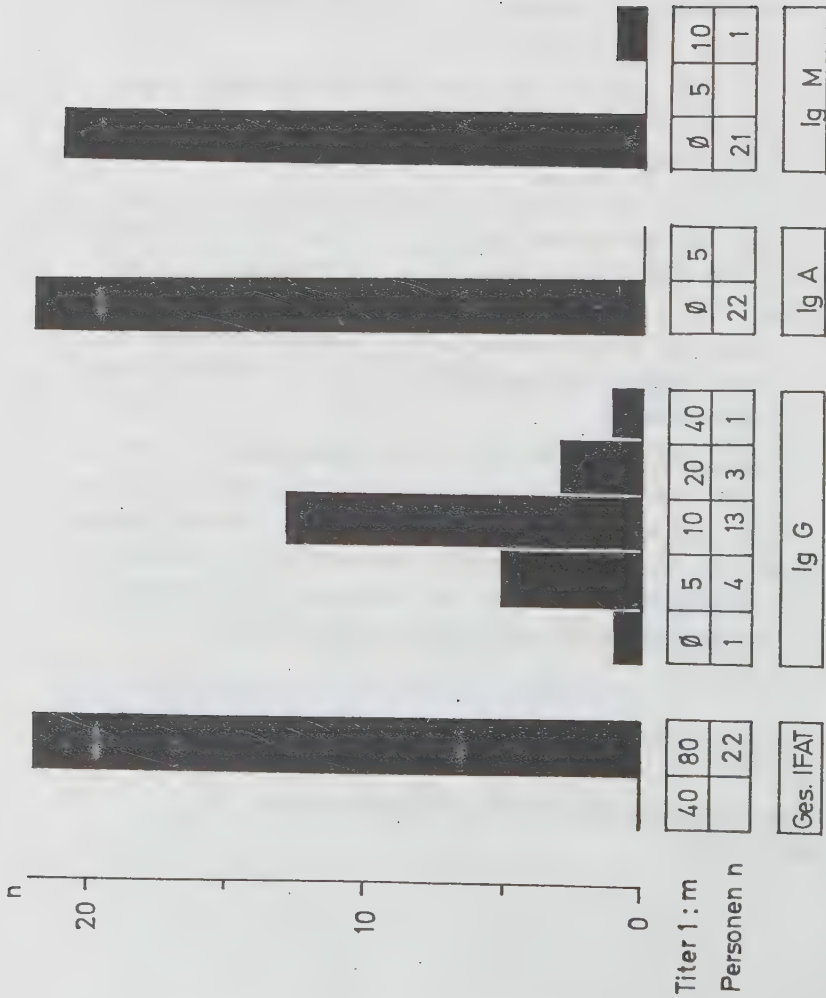
Zusammenfassung

- a) Eine Kombination serologischer Verfahren erhöht die diagnostische Aussage zur invasiven Amöbiasis erheblich (Darstellung 30a).
- b) Eine Kombination von IFAT/IHAT ist weniger aussagekräftig als die Kombination von drei Verfahren (hier zusätzlich Latextest).
- c) Durch die hier gewählte Dreifachkombination wird die Aussage zu dem Bereich, an dem nur noch invasive Verlaufsformen vorkommen, im Vergleich zur verwendeten Zweifachkombination nicht verbessert. Zwei- und Dreifachkombination liegen hier aber in ihrer Aussage im Vergleich zu Einzelverfahren deutlich besser.
- d) Wenn auch die Kombination von IFAT 1:160 / IHAT 1:256 als Grenztiter angesehen werden kann, bei dem hier nur noch invasive Verlaufsformen erfaßt werden, so ist es doch richtiger, von Wahrscheinlichkeit der akuten Invasivität zu sprechen, insbesondere, um niedrigere Titerbereiche zu beurteilen.

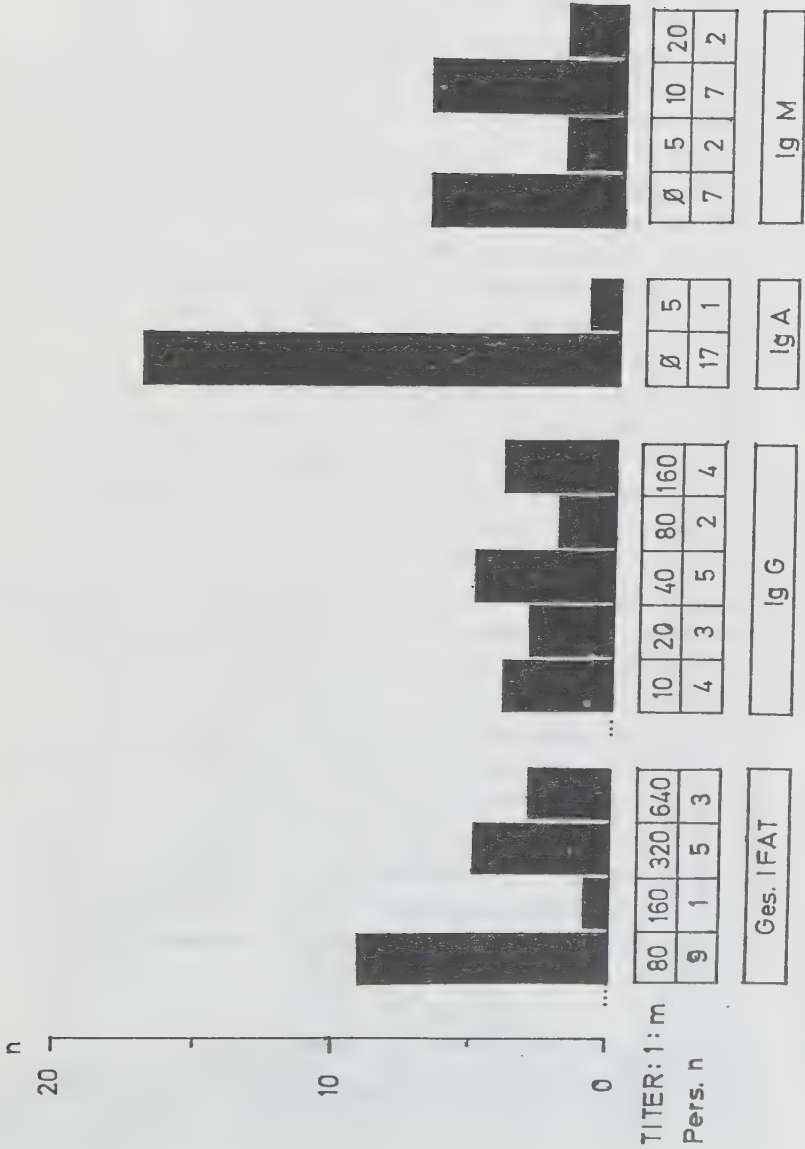
2.5.6 Ergebnisse IFAT (monospezifische Antikörperbestimmung)

2.5.6.1 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

Tab. 31-32



TAB. 31 GESUNDE RÜCKKEHRER, Ges IFAT 1 : 80 MONOSPEZ. ANTIKÖRPERBESTMG.
(22 Pers)



TAB. 32 INVASIVE AMÖBIASIS, GesIFAT 1 : 80 und mehr, MONOSPEZ. ANTIKÖRPERBESTIMMUNG (18 Pers.)

2.5.6.2 Erläuterung zu den Ergebnissen Tab. 31, 32

Da einerseits nach unseren Untersuchungen und in der bekannten Literatur im Immunfluoreszenztest bei Amöbiasis keine Kreuzreaktionen mit anderen Erkrankungen festgestellt worden sind, andererseits nach unseren Ergebnissen Darmlumenbesiedlungen mit nicht-invasiven Amöbenformen keinen wesentlichen Einfluß auf die Titer haben, läßt sich vermuten, daß die relativ große Anzahl verdächtiger Titer bei gesunden Rückkehrern (Tab.14 / 23) als Resttiter einer älteren, selbst ausgeheilten invasiven Amöbiasis sind.

Die Frage stellt sich, ob durch die Bestimmung monospezifischer Antikörper im IFAT, insbesondere zu Ig M-Antikörper, bessere Aussagen über die aktuelle Bedeutung der erhöhten IFAT-Titer möglich sind.

Tabelle 31 erfaßt deshalb 22 Seren gesunder Tropenrückkehrer und Tabelle 32 akut an invasiver Amöbiasis erkrankter Patienten, die alle Immunfluoreszenztiter von 1:80 und mehr aufwiesen und die auf spezifische Antikörper im Ig, G,A,M-Bereich mittels Immunfluoreszenz untersucht wurden.

Es sei nochmals erwähnt, daß die Seren durch einmaliges Einfrieren und Auftauen (2.1.4.3) ihre Antikörperaktivität um durchschnittlich eine Titerstufe verloren (1.2.2).

Es zeigt sich nun, daß alle Seren Antikörper im Ig G-Bereich aufwiesen (Tab.31/32). Ig A-Antikörper waren nur einmal nachweisbar (Tab.32).

Während bei gesunden Rückkehrern nur einmal Ig M spezifische Antikörper nachweisbar waren, zeigten von 18 an invasiver Amöbiasis erkrankte Rückkehrer (13 Leberabszeßpatienten, 5 Amöbenruhrpatienten) 11 Antikörper im Ig M Bereich.

2.5.6.3 Diagnostische Aussage und Zusammenfassung

Die genaue Analyse der Untersuchungen faßt die Tabelle 33 zusammen.

	Gesamt - IFAT				lg G							lg A		lg M				
	80	160	320	640	Ø	5	10	20	40	80	160	Ø	5	Ø	5	10	20	
Titer 1:m u.mehr																		
Leberabszesse	13	9	8	3			13	12	10	6	4	12	1		5	8	7	2
Amöbenruhr	5						5	2	1			5			2	3	2	
Summe invasiver Erkrankungen	18	9	9	3			18	14	11	6	4	17	1		7	11	9	2
gesunde Rückkehrer	22				1	21	17	4	1			22			21	1	1	
Gesamtzahl	40	9	9	3	1	21	35	18	12	6	4	39	1		29	11	10	2

Erläuterung (siehe auch 2.1.4)

In der linken senkrechten Spalte sind die untersuchten Patienten/Personengruppen erfaßt (2.5.3.3) und die Summe der invasiven Amöbiasiserkrankten genannt. Die obere waggrechte Reihe bezeichnet die Titerbereiche 1:m (m = Titerbereich) und mehr, wie unter 2.5.3.3 beschrieben. Neben dem Gesamt IFAT werden die spezifischen Antikörper Ig G, A, M den Patienten/Personengruppen zugeordnet. Die Titer der spezifischen Antikörperaktivitäten liegen allgemein nicht hoch, was sicher auch dem mehrmaligen Einsatz und daher den Einfrier-Auftauvorgängen zuzurechnen ist: die Aufschlüsselung (z.B. im Ig M-Bereich) nach Häufigkeit hat hier mehr dokumentarischen Wert, es kam darauf an, die Gesamtheit der Ig M-Antikörperreaktionen festzustellen. Ein Patient, der nach anamnestischen Angaben bereits seit mehreren Wochen an einem Leberabszeß leiden mußte, wies noch Ig M Antikörper auf, andererseits waren bei zwei Amöbenruhrpatienten keine Ig M Antikörper nachweisbar.

Zusammenfassung

- a) Bis auf einen gesunden Rückkehrer kamen bei allen Personen Titer im Ig G Bereich vor, wobei die Titer der erkrankten Patienten deutlich höher lagen.
- b) Im Ig A Bereich lagen keine oder nur wenig niedrige Titer bei beiden Gruppen.
- c) Die Ig M Titer lagen alle in relativ niedrigen Bereichen, wobei bei akut an invasiver Amöbiasis erkrankten Personen ein deutlich häufigeres, statistisch auffälligeres, Vorkommen höherer Titer als bei gesunden Personen zu verzeichnen ist, aber auch 7 von 11 (44 %) keine Titer aufwiesen.
- d) Bei 18 an akut invasiver Amöbiasis Erkrankten waren in 11 Fällen spezifische Ig M Antikörper nachweisbar (58 %).

- e) Bei 22 Seren gesunder Personen mit IFAT-Titer von 1:80 und mehr konnten nur in einem Fall spezifische Ig M Antikörper nachgewiesen werden.
- f) Man kann daraus schließen, daß ein hoher Prozentsatz verdächtiger und hochverdächtiger Titer im IFAT (Tab.23) bei gesunden Tropenrückkehrern Resttiter einer einmal, wenn auch vielleicht nur kurzzeitig, gewebeinvasiven Amöbiasis ist.

3 Diskussion der Ergebnisse

- a) Im Verlauf der Untersuchungen stellte sich heraus, daß die Zielgruppe der Untersuchungen insbesondere die Patienten mit Erkrankung an invasiver Amöbiasis waren, da in allen nicht-invasiven Verlaufsformen vergleichbare Titer wie bei gesunden Rückkehrern (Tab.3 / 14 / 23) vorkamen.
- b) Die serologischen Untersuchungsverfahren erhalten bei Erkrankungen an Leberabszessen eine hervorragende Bedeutung, da der direkte Erregernachweis im Stuhl meist negativ bleibt. Auch Abszeßpunktate ermöglichen oft keinen direkten Erregernachweis (1.1.5.2). Neben den technischen Untersuchungen (2.3.1.4) steht die Serologie als diagnostisches Mittel zur Genese an vorderer Stelle.
Dabei werden in Einzelfällen immer wieder nicht typische Titer beobachtet, so blieb auch bei akuten invasiven extraintestinalen Verlaufsformen der Latex-agglutinationstest auch nach mehrfacher Kontrolle negativ, im IHAT waren Titerbereiche von 1:64 , im IFAT Titer um 1:80 zu beobachten. Zur Problematisierung solcher Ergebnisse wurde unter 1.2.2 berichtet.
- c) Eine Titerkombination verschiedener serologischer Verfahren ist daher notwendig und wird auch von anderen Autoren empfohlen (34) (2.5.5), da mit "Ausreißern" gerechnet werden muß. Wir haben in der vorliegenden Arbeit weniger untypische Titer im IFAT als im IHAT beobachtet, was aber auch an der relativ kleinen Zahl der Untersuchungen von Leberabszessen liegen kann.
- d) Bei Patienten mit Amöbenruhr wurde in den serologischen Untersuchungsverfahren eine deutlichere Titterschwankung beobachtet als bei den Leberabszeßpatienten. Hier mag der Zeitpunkt der Erkrankung

(2.3.2.7), der Behandlungsbeginn und die Subjektivität anamnestischer Angaben (13) (1,1,4,1) eine Rolle spielen, denn Titerhöhen persistieren unterschiedlich lange (1.2.2).

- e) Cystenträger von *Entamoeba histolytica* und Träger von apathogenen Amöben haben keinen oder keinen wesentlichen Einfluß auf die serologischen Untersuchungsverfahren. Diese Personen wiesen durchschnittlich keine höheren Titer als parasitenfreie und beschwerdefreie Personen (Tab.3 / 14 / 23) auf, wobei bei dieser Gruppe 10,5 % der Personen im IFAT ein Titer von 1:40 und mehr, im IHAT 11,8 % ein Titer von 1:32 und mehr vorkam.
- Wir meinen (siehe f)), daß diese Titer auf eine anamnestisch nicht sicher zu erkundende frühere, eventuell kurzzeitige, invasive Amöbiasis mit Selbstheilung zurückzuführen sind.

- f) Der Nachweis von monospezifischen Antikörpern im IFAT zeigt, daß die Titer größtenteils im Ig G-Bereich liegen, daß sich aber Patienten mit einer akuten invasiven Amöbiasis und Titer im Ig M-Bereich nachweisen lassen, wenn auch in niedrigen Verdünnungsstufen.

Dagegen waren bei gesunden, parasitenfreien Rückkehrern mit hohen Gesamttitern nur einmal Ig M spezifische Antikörper in niedrigster Verdünnungsstufe nachzuweisen.

Das läßt unserer Meinung nach die These zu, daß diese auffällig hohen Titer von gesunden, parasitenfreien Personen aus Endemiegebieten "anamnestische Titer" sind. Vermutlich hat es sich einmal um eine gewebeinvasive, selbst ausgeheilte Amöbiasis gehandelt, wobei es sich eher um den Kontakt mit Magnaformen handeln dürfte, da eine Erkrankung an Leberabszessen manifest erschiene. Inwieweit hier auch eine Amöbenhepatothose vorgelegen haben mag, möglicherweise auch als Folge von bisher nicht sicher

nachgewiesenen Erregern in Mikroabszessen (13).
oder als Folge umstrittener Amöbentoxine, bedarf
noch zukünftiger Untersuchungen.

Wegen des erheblichen Arbeitsaufwandes (bei einer
Trefferquote von 11 positiven zu 7 negativen Titer
bei uns) erscheint eine monospezifische Antikörper-
bestimmung unter Routinebedingungen nicht geeignet.

4 Kurzfassung

1. Zielgruppe der hier verwendeten serologischen Verfahren ist die gewebeinvasive Amöbiasis, insbesondere der Leberabszeß. Für zuverlässige Aussagen empfiehlt sich die Kombination unterschiedlicher Tests. Methodisch hat sich bei uns die Kombination IHAT/IFAT unter Routinebedingungen gut bewährt.
2. Bei über 10 % der gesunden Rückkehrer konnten bei den quantitativen Verfahren (IHAT/IFAT) Titer festgestellt werden, wie sie bei gewebeinvasiver Amöbiasis auftreten. Es ist anzunehmen, daß es sich hierbei größtenteils um Resttiter nach durchgemachter Amöbenruhr während des Auslandsaufenthalts handelt.
3. Der Nachweis von Ig M spezifischen Antikörpern im IFAT ist ein deutlicher Hinweis auf bestehende Invasivität, jedoch nicht immer sind bei Invasivität Ig M-Antikörper nachweisbar.
4. Apathogene Amöben sowie Cysten- und Minutaformausscheider beeinflussen die verwendeten serologischen Verfahren nicht/oder nicht wesentlich. Aussagen über Darmlumenbesiedelungen sind durch die hier besprochenen serologischen Verfahren nicht möglich. Parasitologische Stuhluntersuchungen sind durch die Serologie nicht zu ersetzen.
5. Das Festlegen von Grenztitern erscheint nicht gerechtfertigt, es kann nur die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung festgestellt werden.

5 Literatur

1. Ambroise-Thomas, P.T., Kien Truong, Fluorescent antibody test in amoebiasis. Clinical applications. Amer. J. trop. Med. Hyg. 21 (1972) 907
2. Ambroise-Thomas, P.T., Immunfluorescence in the diagnosis, therapeutic follow-up and sero-epidemiological studies of some parasitic diseases, Transact. of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg., Vol 70, No 2 (1976) 107-112
3. Antia, F.P., H.G. Desai, K.B. Jeejeebhoy, A.V. Borkar, Problems in the diagnosis of intestinal amoebiasis, J. Trop. Med. Hyg., 68 (1965) 53
4. Diamond, L.S., Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*, Science 134 (1961) 336
5. Diamond, L.S., Technic of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *Entamoeba histolytica* like amoebae, J. Parasit., 54 (1968) 1047
6. Diamond, L.S., I.L. Bartois, Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* in a clear liquid medium, Internat. Congress Protozoologie London (1965) 102
7. Elsdon-Dew, R., The epidemiology of amoebiasis, Advanc. Parasit. 6 (1968) 1
8. Enders, B., M. Singh, E.H. Yap, and K.-D. Hungerer, Experience with a standardized IHA-reagent for the serodiagnosis of Invasive Amoebiasis in Man, Behring Instituts Mittlg. No 60 (1976) 98-106
9. Enders, B., in: Kolloquium über Probleme der Immundiagnostik parasitärer Infektionen, Hrsg. Zahner, Wegerhof Gamig-Druck Gießen (1978) 126
10. Farshy, D.C. und G.R. Healy, Use of stable, sensitized cells in indirect microhemagglutination test for amebiasis, Appl. Microbiol. 27 (1974) 11-15
11. Felgner, P., W. Mohr, E. Mannweiler, Immundiagnostische Untersuchungen auf Amöbiasis bei Tropenrückkehrern. Deutsch. med. Wschr. 98 (1973) 2127-2131
12. Felgner, P., I. Lederer, Some aspects in immundiagnosis of amebiasis. Tronmed. Parasit. 27 (1976) 165
13. Fernex, M., in: Gsell, Mohr Lehrbuch Infektionskrankheiten IV, Springer Verlag Berlin (1972) 325ff.
14. Fischer, L., Wo ist in Europa mit dem Auftreten von Amöbenruhr zu rechnen. Dtsch. med. Wschr. 91 (1966) 138

15. Franke, H., Manuskript und Vortrag, Gg. Thime Verlag, Stuttgart (1967)
16. Gilmann, R.H., K. Prathap, Akute intestinal amebiasis-proctoscopic appearance with histopathological correlation, Ann. Trop. Med. Parasit. 65 (1971) 359
17. Gross, J.H., M.D. Clarke, P.T. Durfee, G.S. Irving, J. Taylor, F. Partono, A. Joesoef, Hudojo, S. Oemijati, Parasitology survey and seroepidemiology of amoebiasis in South Kalimantan (Borneo), Indonesia, Southeast Asian, J. Trop.
18. Haas, J., Autochtone Amöbenruhr, Z. Gastroenterolog. 6. (1968)
19. Hallmann, Burkhardt, Lehrbuch Klinische Mikrobiologie, Thieme Verlag (1974)
20. Haselhoff, O.W., H.J. Hoffmann, Lehrbuch der Statistik, Walter de Gruyter & Co., Berlin (1970)
21. Healy, G.R., I.G. Kagan, N.N. Gleason, Use of the indirect hemagglutination test in some studies of seroepidemiology of amebiasis in the western hemisphere, Hlth. Lab. Sci. 7 (1970) 10§
22. Healy, G.R., Laboratory diagnosis of amebiasis, Bull. N.Y. Acad. Med. 47 (1971) 478
23. Healy, G.R., The use and limitations to the indirect haemagglutination test in the diagnosis of intestinal amebiasis, Hlth Lab. Sci. 5 (1968) 174-179
24. Healy, G.R., S.C. Kraft, The indirect haemagglutination test for amebiasis for patients with inflammatory bowel disease, Am. J. Dig. Dis. (1972) 17, 94-104
25. Jarumlinta, R., B.G. Maigraith, Enzymes of Entameba histolytica, Bull. Wld. Hlth. Org. 41 (1969) 269
26. Juniper, jr. K., C.L. Worell, M.C. Minshew, L.S. Roth, H. Cypert, R.E. Lloyd, Serology diagnosis of amebiasis, Am. J. Trop. Med. Hyg. 21 (1972) 157
27. Kessel, J.F., W.P. Lewis, C.M. Pascquel, J.A. Turner, Indirect haemagglutination and complement fixation tests in amebiasis, Am. J. Trop. Med. Hyg. 14 (1965) 540
28. Kessel, J.F., W.P. Lewis, S. Ma und Kim, H., Preliminary report on a hemagglutination test for Entamoeba. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106 (1961) 409-413
29. Kotcher, E., G.M. Miranda, V.G. de Salgado, Correlation of clinical, parasitological and serological data of individuals infested with Entamoeba histolytica, Gastroenterology 58 (1970) 388-391

30. Krupp, I.M., Antibody response in intestinal and extra-intestinal amebiasis, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 19 (1970) 57
31. Lamy, L., D. Piechaud, Utilisation de la sensibilité bacterienne aux antibiotiques pour l'etude du role des bacteries dans le determinisme de l'enkystement spontane d'*Entamoeba histolytica* en culture, *Bull. Soc. Path. exot.* 54 (1961) 98
32. Lewis, W.P., J.F. Kessel, Hemagglutination in the diagnosis of toxoplasmosis and amebiasis, *Arch. Ophthalmol.* 66 (1961) 471-476
33. Maddison, S.E., Application of serology to the epidemiology of amebiasis, *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 14 (1965) 554
34. Mahajan, R.C., N.K. Ganguly, N.L. Chitkara, D.V. Dutta, P.N. Chhuttani, Detection of amoebic antigen in liver pus by counter immuno-electrophoresis. A preliminary report. *Indian J. Med. Res.* 62 (1974) 1462
35. Mahajan, R.C., N.K. Ganguly, N.L. Chitkara, D.V. Dutta, P.N. Chhuttani, Precipitating antibodies against *Entamoeba histolytica* in liver pus. A preliminary communication. *Indian J. Med. Res.* 63 (1975) 229
36. Mannweiler, E., I. Lederer, Immundiagnostische Ergebnisse bei der Amöbiasis. Die Leistung der Gegenstrom-Immun-elektrophorese im Vergleich zu drei anderen Immuntests. *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A* 240 (1978) 403-408
37. Meyer, H.A., V. Suter-Kopp, Ein Fall von nicht tropischem Amöbenabszß der Leber. *Schweiz. med. Wochenschrift* 102 (1972) 483
38. Milgram, E.A., G.R. Healy, I.G. Kagan, Studies on the use of the indirect heamagglutination test in the diagnosis of amebiasis. *Gastroenterology* 50 (1966) 645-649
39. Mohr, W., W. Häse, H. Jahnke, F. Sendtner-Voelderndorf, Beobachtungen bei Rückkehrern aus tropischen Ländern. Kongreßbericht, Deutsche Tropenmed. Gesell. April 67, München, Urban & Schwarzenberg 1968, 264
40. Morris, M.N., S.J. Powell, R. Elsdon-Dew, Latex Agglutination Test for invasive Amebiasis, *The Lancet*, June 27 (1970) 1362
41. Payet, M., M. Sankale, M. Mounlanier, P. Pene, P.A. Kane, A. Kante, Les aspects cliniques de l'ambiase chez l'adult african en milieu hospitalier a Dakar, *Bull. Mem. Fac. Med. Pharm. Dakhar* 12 (1964) 4
42. Piekarski, G., *Medizinische Parasitologie*, Springer Berlin 1973

43. Prakash, O., B.N. Tandon, I. Bhalla, A.K. Ray, V.K. Vinayak, Indirect Haemagglutination and ameba-immobilization test and their evaluation in intestinal and extraintestinal amebiasis, Am. J. Trop. Med. Hyg. 18 (1969) 670 - 675
44. Richards, C.S., M. Goldman, L.T. Cannon, Cultivation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba* like strains at reduced temperature and behaviour of the ameba in dilted media, Am. J. Tro. Med. Hyg. 15 (1966) 648
45. Rondanelli, E.G., F. Osculati, G. Gerna, G. Carosi, Indagini ultrastrutturali su *Entamoeba histolytica*, ceppo Laredo. Boll. Ist. Sieroter 46 (1967) 455
46. Scalas, L., Contributo allo studio della deviazione del complemento nella dysenteria amebica, Rif. med. 37 (1921) 103
47. Stamm, W.P., M.J. Ashley, S.M. Parelkar, Evaluation of a Latex Agglutination test for amebiasis, Transact. of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg. No 2 (1973) 211
48. Stamm, W.P., M.J. Ashley, K. Bell, The value of amoebic serology in an area of low endemicity. Transact. of Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg. Vol 70 No 1 (1976) 49
49. Swellengrebel, N.H., A.C. Rijpstra, *Entamoeba histolytica* chez le singe et chez l'homme, Ann. Soc. belge Med. Trop. 44 (1964) 335
50. WHO-Amoebiasis-Report of a WHO expert committee. Wld. Hlth. Org. techn. Rep. Ser 421 (1969)
51. Wissler, K., Erfahrungen bei der Serodiagnostik der invasiven Amöbiasis im indirekten Immunfluoreszenztest, Kolloquium über Probleme der Immundiagnostik parasitärer Infektionen, Juni 1978 Gießen, Gahmig-Druck Gießen (1978) 126
52. Yap, E.H., H. Singh, B. Ho E.H.Sng., An evaluation of the indirect haemagglutination test using axenically-grown *Entamoeba histolytica* antigen, Singapore Med. J. (1977)
53. Zawahry, M.E., M.E. Komy, Amebiasis cutis, Int. J. Dermatol. 12 (1973) 305
54. Zwisler, O., Praktikum der Parasitosen, Verlag H. Hoffmann Berlin (1976) 13-32

Lebenslauf

geboren am: 14. Februar 1947 in Braunschweig

Eltern: Dr.med. Heinrich v.Zielonka und
Eleonore v.Z. geb.Baars, Gymnasiallehrerin, verst.

Schulgang: 1953 - 1957 Grundschulen: Volksschule Roklum,
Kreis Wolfenbüttel, evan.Volksschule Holzminden;
1957 - 1966 Gymnasien: Gymnasium Holzminden,
humanistisches Wilhelm-Gymnasium Braunschweig,
Tellkampfschule Hannover mit Reifeprüfung
September 1966

1966 - 1968 Bundeswehrzeit mit Reserveoffiziersausbildung der
Luftwaffe, Krankenpflegepraktikum und
Klavierunterricht;

Studiengang: 1968 - 1969 Sport- und Biologiestudium TU Hannover,
1969 - 1977 Studium der Humanmedizin LMU-München,
sowie im Fachbereich Sozialwissenschaften;
Ausbildung in gruppendynamischer Gesprächsführung,
vom Deutschen akademischen Austauschdienst (DAAD)
geförderte Auslandsfamulaturen;
ärztliche Prüfung im März 1977;
Mitarbeiter der Deutschen Gesellschaft für technische
Zusammenarbeit (GTZ) in Äthiopien und Afghanistan;

ärztliche Tätigkeit: 1977 - 1978 Medizinalassistent der Medizinischen
Klinik II im Klinikum Großhadern und der
chirurgischen Klinik Großhadern und Innenstadt;
1978 - 1980 Assistenzarzt der Neurochirurgischen
Klinik, Klinikum Großhadern;
1980 - 1981 verantwortlicher Arzt bei Aufbau einer
medizinischen Versorgung im Bundesland Dikhil der
Republik Djibouti, internistische - tropenmedizinische
Tätigkeit im Krankenhaus Djibouti,
Mitarbeiter der Vereinten Nationen, Haut Commissariat
pour les Réfugiés.

